

Иммунопатогенез воспалительных заболеваний кишечника

Е.А. Конович, И.Л. Халиф, М.В. Шапина

ФГБУ «Государственный научный центр колопроктологии» Минздрава РФ

Immunopathogenesis of inflammatory bowel diseases

Ye.A. Konovich, I.L. Khalif, M.V. Shapina

Federal state-funded institution «State Scientific Center of Coloproctology»
Ministry of healthcare of the Russian Federation

Цель обзора. Представить анализ данных по иммунопатогенезу воспалительных заболеваний кишечника.

Основные положения. У генетически чувствительных животных воспалительные заболевания кишечника (ВЗК) развиваются при различных воздействиях на врожденную и адаптивную системы иммунитета (нокаутные и трансгенные мыши), вызывающих изменения экспрессии значимых иммунологических факторов с нарушением соотношения про- и противовоспалительных клеток и молекул в их контактах со структурами микроорганизмов.

Физиологическое состояние кишечника характеризуется сбалансированным взаимодействием эффекторных (Th1, Th2, Th17) и регуляторных (Treg) клеток, определяющих наличие иммунной толерантности к антигенам резидентной микрофлоры.

Установленные в последние годы изменения в системе врожденного иммунитета, связанные с мутациями генов рецепторов бактериальных структур (NOD2, toll-подобных рецепторов, аутофагии), вызывают нарушение внутриклеточных сигнальных процессов и патологическую активацию клеток адаптивного иммунитета слизистой оболочки кишечника и соответствующего им профиля цитокинов с развитием хронического воспаления, которое опосредуется: при болезни Крона – Th1- и Th17-клетками, цитокинами ИЛ-12, интерфероном- γ и

The aim of review. To present analysis of data on immunopathogenesis of inflammatory bowel diseases.

Key points. At genetically sensitive animals *inflammatory bowel diseases* (IBD) develop at various effects on innate and adaptive systems of immune defense (knock-out and transgenic mice), causing changes of expression of significant immunologic factors with distortion of pro- and anti-inflammatory cells and molecules ratio at their contact to microbiota structures.

The physiological state of intestine is characterized by balanced interaction of effector (Th1, Th2, Th17) and regulatory (Treg) cells determining presence of immune tolerance to resident microflora antigens.

Innate immunity changes revealed in last years, related to mutations of genes of bacterial structures receptors (NOD2, toll-like receptors, autophagy), cause disorder of endocellular signal processes and pathological activation of cells of adaptive immunodefense of intestinal mucosa and conforming profile of cytokines with development of chronic inflammation which will be mediated: at Crohn's disease – by Th1-and Th17-cells, cytokines IL-12, interferon- γ etc., at ulcerative colitis – by Th2-and NKT-cells, cytokines IL-4 and IL-3 in combination to incompetence of suppressor function of regulatory T-cells and their cytokines TGF- β (transforming growth factor) and IL-10.

Conclusion. Investigations of experimental enterocolites and human IBD confirm immunologic hypoth-

Конович Евгений Аронович – доктор медицинских наук, старший научный сотрудник отдела микробиологических и иммунологических исследований ФГБУ «ГНЦ колопроктологии» Минздрава России. Контактная информация: evgkonovich@mail.ru; 123423, Москва, ул. Саяма-Адиля, д. 2, ФГБУ «ГНЦ колопроктологии» Минздрава РФ
Konovich Eugeny A. – MD, PhD, senior research associate of department of microbiologic and immunologic investigations, Federal state-funded institution «State Scientific Center of Coloproctology» Ministry of healthcare of the Russian Federation. Contact information: evgkonovich@mail.ru; 123423, Moscow, Salyam-Adilya street, 2, Federal state-funded institution «State Scientific Center of Coloproctology» Ministry of healthcare of the Russian Federation

Халиф Игорь Львович – доктор медицинских наук, профессор, руководитель отдела по изучению воспалительных и функциональных заболеваний кишечника ФГБУ «ГНЦ колопроктологии» Минздрава России

Шапина Марина Владимировна – ординатор отделения гастроэнтерологии с хирургической группой ФГБУ «ГНЦ колопроктологии» Минздрава России

др., при язвенном колите – Th2- и NKT-клетками, цитокинами ИЛ-4 и ИЛ-13 в сочетании с недостаточностью супрессорной функции регуляторных Т-клеток и их цитокинов TGF- β (трансформирующий фактор роста) и ИЛ-10.

Закключение. Исследования экспериментальных энтероколитов и ВЗК человека подтверждают иммунологическую гипотезу патогенеза: связь их развития с дефектами врожденной и адаптивной иммунной системы.

Ключевые слова: воспалительные заболевания кишечника, иммунопатогенез, врожденный и адаптивный иммунитет, экспериментальные модели.

По мнению большинства авторов, развитие *воспалительных заболеваний кишечника* (ВЗК), представляющих различные клинко-морфологические формы, обусловлено взаимодействием генетических, иммунологических и бактериальных механизмов. Разработанные в последние годы различные модели воспаления кишечника у экспериментальных животных позволяют исследовать роль отдельных патогенетических факторов в сложной системе их взаимодействий. Большинство новых моделей ВЗК получены у линейных мышей с инсерцией (вставка гена, трансгенные мыши) или селективной делецией генов (утрата гена, нокаутные мыши). Нарушение иммунорегуляции и активация иммунного ответа по отношению к антигенам собственной кишечной микрофлоры лежат в основе развития экспериментальных колитов у генетически чувствительных животных.

Роль врожденного иммунитета

Врожденный иммунитет обеспечивает ранний неспецифический ответ на внедрение антигенов (патогенов), опосредуемый барьерной функцией эпителия, фагоцитами (нейтрофилы, макрофаги), естественными клетками-киллерами (NK-клетки), а также эндотелиальными клетками сосудов, которые участвуют в циркуляции воспалительных клеток в очаге поражения. Его основная роль состоит в распознавании патоген-ассоциированных молекулярных структур (PAMP – pathogen-associated molecular pattern) или структур (паттернов), ассоциированных с микроорганизмами (MAMP – microbial-associated molecular pattern), организации воспалительного ответа для изоляции патогенов, их выведения и активации специфического адаптивного (приобретенного) иммунитета, который опосредуется Т- и В-клетками и обеспечивает ответ на повторное внедрение патогенов [1, 3].

Распознавание патогенов осуществляется клетками врожденной иммунной системы посредством экспрессии селективных паттерн (образ)-распознающих рецепторов (PRR- pattern-recognition receptors): трансмембранные TLR (toll

like receptors, toll-подобные рецепторы) и внутриклеточные рецепторы NLR (NOD like receptors, NOD-подобные рецепторы). Контакт рецепторов с PAMP вызывает ряд последовательных молекулярных и клеточных взаимодействий, ведущих к развитию острого и хронического воспаления [25, 28].

Key words: inflammatory bowel diseases, immunopathogenesis, innate and adaptive immunodefense, pilot models.

like receptors, toll-подобные рецепторы) и внутриклеточные рецепторы NLR (NOD like receptors, NOD-подобные рецепторы). Контакт рецепторов с PAMP вызывает ряд последовательных молекулярных и клеточных взаимодействий, ведущих к развитию острого и хронического воспаления [25, 28].

TLR активируют отдельные и частично перекрывающиеся сигнальные механизмы, адаптерные белки и различные дополнительные факторы, которые опосредуют специфические иммунные ответы. Адаптерные белки MyD88, Mal/TIRAP, TRIF/TICAM-1, TRAM/Tirp/TICAM-2 и другие участвуют в комплексных сигнальных процессах, которые иницируют транскрипционные факторы (NF- κ B, AP-1, STAT и др.) к активации генов с последующей продукцией про- и противовоспалительных цитокинов, активацией и миграцией клеток врожденной и адаптивной иммунной систем в слизистой оболочке кишечника. Ингибиторные молекулы животного и человеческого происхождения (Tollip, PPAR- γ , SIGIRR или TIR8, A20, ИЛ-10, IFN- α/β , TGF- β , ингибиторы COX-2 и др.) супрессируют в нормальных условиях провоспалительные механизмы, ассоциированные с функциями TLR и NLR, блокируя, таким образом, избыточные воспалительные реакции по отношению к аутологичной микрофлоре [6–8].

Различные рецепторы распознают определенные PAMP (лиганды), которые могут представлять значимые структуры микроорганизмов: *липополисахарид* (ЛПС), липопотеины, ДНК бактерий, двухнитчатую РНК у вирусов и др. В настоящее время у млекопитающих известно более 10 типов TLR, которые реагируют с их лигандами. В частности, TLR4 распознает ЛПС бактерий, TLR2 в комбинации с TLR6 или TLR1 являются рецепторами пептидогликана и других компонентов бактерий, TLR5 – рецептором флагеллина, компонента жгутиков бактерий (фактора вирулентности грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов) [4].

TLR4 является основным рецептором для узнавания грамотрицательных бактерий, а также грибов и вирусов. Мыши, у которых не продуцирует-

ся TLR4 (TLR4 нокаутные мыши), не распознают ЛПС и после его введения погибают от сепсиса. У них также увеличивается чувствительность к колиту, вызываемому DSS (dextran sulfate sodium, декстран сульфат натрия). Экспрессия TLR4 при ВЗК увеличивалась в кишечном эпителии, в макрофагах и дендритных клетках собственной пластинки слизистой оболочки. Предполагается, что в естественных условиях существует определенный баланс противoinфекционной (протективной) и провоспалительной функций TLR4 [4, 6, 8].

TLR2 в сочетании с TLR1 и TLR6 распознают грамположительные бактерии, структуры патогенных сальмонелл, антигены микобактерий и грибы. Экспрессия TLR2 увеличена в макрофагах и дендритных клетках слизистой оболочки толстой кишки больных *язвенным колитом* (ЯК) и *болезнью Крона* (БК) при активном воспалительном процессе. Дендритные клетки кишечника больных БК после стимуляции лигандами TLR2 увеличивали продукцию провоспалительных интерлейкинов ИЛ-6 и ИЛ-12 [16, 17].

TLR5 активируется мономерным флагеллином патогенных бактерий. У больных БК выявляются антитела к флагеллину бактерий-комменсалов. У мышей, дефицитных по TLR5, наблюдается увеличение колонизации бактерий и развитие спонтанного колита [4, 41].

TLR3 является рецептором двухнитчатой РНК и распознает преимущественно вирусные РАРР. Его ген локализуется в участке хромосомы 4, где расположены некоторые локусы чувствительности ВЗК. Экспрессия TLR3 в эпителиальных клетках кишечника снижается при активной БК, но не при ЯК. Введение мышам синтетической РНК (poly I:C), как аналога лиганда TLR3, защищало их от развития острого DSS-колита [4, 42].

TLR9 распознает бактериальную ДНК. Этот рецептор экспрессируется в клетках Панета кишечного эпителия, которые продуцируют дефензины, защищающие кишечник от патогенов [38]. У TLR9-дефицитных мышей наблюдалось увеличение чувствительности к острому DSS-колиту и снижение ее в отношении хронического колита, т. е. TLR9 выполнял различные функции в разные фазы воспалительного процесса [30, 36].

Мутации генов TLR, ассоциированные с нарушением гомеостатических антибактериальных механизмов, выявлены при ВЗК, включая и больных с тотальным поражением толстой кишки (TLR₄D₂₉₉G, TLR₁L8₀P, TLR₂R₇₅₃G и др.) [11].

В 2001 г. было установлено, что мутации гена NOD2 ассоциированы с чувствительностью к БК. NOD2, который продуцируется главным образом в фагоцитах, включая макрофаги, моноциты, дендритные клетки и нейтрофилы, в эпителиальных клетках выявляется после активации провоспалительными цитокинами. В кишечнике

NOD2 экспрессируется в клетках Панета, которые продуцируют дефензины и лизоцим. CARD15 (caspase recruitment domains)/NOD2 является внутриклеточным рецептором мурамилдипептида, структуры пептидогликана стенки бактерий [14, 23]. Белок NOD2 выполняет в кишечном эпителии защитную антибактериальную функцию [19]. В клетках с мутантным геном снижается резистентность местного иммунитета к инвазии кишечными бактериями. У мышей, дефицитных по NOD2, наблюдается увеличение продукции провоспалительных цитокинов и возрастает чувствительность к индукции колита. У 30% больных БК выявляется один из трех вариантов аллелей гена NOD2/CARD15 (Arg702Trp, Gly908Arg, Leu1007) против 10% у здоровых или больных ЯК. Гомозиготность увеличивает риск развития БК в 5–10 раз. Однако не во всех популяциях (Япония, Корея и др.) обнаруживается связь этого гена с чувствительностью к БК. Это предполагает наличие других генов чувствительности, ответственных за распознавание бактериальных лигандов [5, 21, 28].

Дефензины (антимикробные пептиды иммунной системы) обладают антибактериальной, антигрибковой и антивирусной активностью и ограничивают рост микроорганизмов в тонкой и толстой кишке. Они продуцируются преимущественно в нейтрофилах и в клетках Панета — энтероцитах, расположенных на дне крипт слизистой оболочки тонкой кишки. Содержание α -дефензинов человека (HD5 и HD6) было значительно снижено при БК тонкой кишки, особенно у больных с мутацией NOD2. При БК толстой кишки выявляется снижение количества копий генов β -дефензинов 2 и 3, основных антимикробных пептидов толстой кишки. Стимуляция TLR4 и TLR2 вызывает экспрессию β -дефензина 2 в эпителиальных клетках кишечника [43].

Генетические исследования обнаружили связь БК с различными полиморфизмами в генах аутофагии ATG16L1 и IRGM. Аутофагия рассматривается как один из центральных механизмов антибактериальной резистентности, при котором цитоплазматические белки образуют мембрану, изолирующую часть цитоплазмы с ее органеллами и внутриклеточными патогенами. Макрофаги используют аутофагию для захвата и киллинга внутри- и внеклеточных бактериальных патогенов (*E. coli*, *Streptococcus*, *Mycobacterium species* и др.) посредством слияния фагоцитированных компонентов с лизосомой. Эпителиальные клетки также используют аутофагию для киллинга инвазирующих бактерий. Гены аутофагии, связанные с риском развития ВЗК, влияют на процесс ксенофагии, а дефекты ксенофагии могут способствовать нарушению взаимодействия с бактериями, тем самым обеспечивая среду, которая предрасполагает к неадекватному ответу организ-

ма на микроорганизмы-комменсалы и хроническому воспалению [13]. Показано, что мутации в генах и снижение экспрессии белков аутофагии и NOD2 ведут к дисфункции аутофагии и дефекту киллинга бактерий, нарушению процессинга и презентации антигенов в дендритных клетках. Помимо основной роли в инициации иммунного ответа на внутриклеточные бактерии, аутофагия играет роль в противовирусном ответе посредством регуляции противовирусных сигнальных каскадов [22, 31]. Кроме того, аутофагия участвует в гомеостазе клеток Панета, поддерживая достаточное число гранул в этих клетках [13]. Недостаточность аутофагии как функции врожденного иммунитета сопровождается стимуляцией пролиферации Т-клеток, т. е. активацией провоспалительных механизмов адаптивного иммунитета [11, 26].

Слизистая оболочка толстой кишки находится в контакте с чрезвычайно большим количеством микроорганизмов и их РAMP. Поверхностный эпителий является первым защитным барьером врожденной иммунной системы слизистой оболочки. В нормальных условиях экспрессия TLR в эпителиальных клетках снижена или не выявляется и отсутствует реакция на резидентную кишечную микрофлору. Контакт микрофлоры с клетками иммунной системы значительно усиливается при нарушении кишечной проницаемости, которая рассматривается как важный фактор патогенеза ВЗК, особенно БК, и может предшествовать развитию заболевания, а также выявляется у родственников больных. Увеличение проницаемости кишечной стенки связано со снижением экспрессии адгезивных белков (клаудинов), регулирующих функцию плотных межэпителиальных соединений, и с увеличением продукции клаудина-2, который способствует образованию пор в этих соединениях [48]. Дефекты TLR и NOD2 приводят к снижению выведения бактерий с апикальной поверхности эпителия. У больных ВЗК наблюдается значительное увеличение количества бактерий в слизистой оболочке толстой кишки. TLR участвуют в регуляции барьерной функции кишечника. Для восстановления пораженного эпителия и снижения транслокации бактерий внутри слизистой оболочки требуется присутствие интактных TLR [4, 28].

Дендритные клетки, макрофаги и эпителий являются местом первичной локализации дефектов врожденной иммунной системы при ВЗК. Нарушение функции ее бактериальных рецепторов сопровождается миграцией (транслокацией) бактерий в мезентериальные лимфоузлы при экспериментальном колите и в глубокие слои слизистой оболочки при БК [5]. Возникающая вследствие этого избыточная активация Т- и В-клеток может рассматриваться как вторичное событие, направленное на компенсацию дефек-

та врожденной иммунной системы. У больных выявляются антимикробные антитела к микроорганизмам-комменсалам: *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA), *Escherichia coli* (Omp-C), *Pseudomonas fluorescens* [12], флагеллину из кластридий (Cbir) и эпитолам углеводов (ALCA, ACCA). Антитела к Cbir ассоциированы с БК тонкой кишки, с пенетрирующей и фибростенозирующей формами БК [4]. Мутации NOD2 сопровождаются повышением уровня антибактериальных антител, подтверждая, что недостаточность врожденной иммунной системы ведет к активации адаптивного иммунитета. Поскольку большинство TLR экспрессируются на CD4+ Т-клетках, они могут непосредственно влиять на их пролиферацию, продукцию цитокинов, активацию и супрессорную функцию [9].

Изложенные выше данные о дефектах функции рецепторов врожденной иммунной системы при воспалительных заболеваниях кишечника и при экспериментальных колитах открывают возможности разработки стратегии таргетной (прицельной) терапии с целью нормализации взаимодействия иммунной системы слизистой оболочки и собственной кишечной микрофлоры.

Роль адаптивного иммунитета. Провоспалительное и регулирующее действие цитокинов

Антигенпрезентирующие клетки (активированные мукозные дендритные клетки и макрофаги) выполняют переработку (процессинг) антигена и представляют его на своей поверхности Т- и В-клеткам в форме антигенного пептида, соединенного с молекулой главного комплекса гистосовместимости. Распознавание антигена рецепторами Т- и В-клеток ведет к их активации, увеличению численности, продукции цитокинов Т-клетками (клеточный иммунный ответ) и трансформации В-клеток в плазматические клетки, продуцирующие антитела (гуморальный иммунный ответ). Сбалансированный иммунный ответ осуществляется эффекторными клетками Т-хелперами (Th) и Т-регуляторными клетками (Treg). Обе популяции клеток вырабатываются вилочковой железой. «Наивные» Т-клетки, ранее не встречавшиеся с антигеном, в периферическом кровотоке дифференцируются в эффекторные CD4+ Th (Th1, Th2 и Th17) клетки [1, 3].

CD4+ Т-лимфоциты являются ключевым звеном адаптивного иммунитета, реагирующим на патогенное влияние микрофлоры, и доминирующей субпопуляцией клеток иммунного воспалительного процесса, ведущего к развитию ВЗК. Слизистая оболочка толстой кишки при ЯК и БК значительно инфильтрирована активированными CD4+ Т-клетками. Увеличиваются резистентность этих клеток к апоптозу (запрограммированной смерти клеток) и продолжительность их клеточ-

ного цикла. Нормальное состояние слизистой оболочки в ее взаимодействии с микрофлорой («физиологическое воспаление») является результатом баланса между эффекторными и регуляторными лимфоцитами адаптивной иммунной системы и соответствующим каждой из этих субпопуляций лимфоцитов профилем цитокинов [33].

Цитокины (низкомолекулярные гликопротеины) продуцируются широким спектром иммунных и неиммунных клеток и осуществляют многообразные не прямые (дистанционные) взаимодействия между ними. Цитокины функционируют посредством контактов с их высокоаффинными специфическими клеточными рецепторами. В зависимости от функции цитокины подразделяются на ряд групп, включающих в том числе интерлейкины, интерфероны, хемокины и др.; по их влиянию на воспалительный процесс выделяют группы про- и противовоспалительных (регуляторных) цитокинов. Провоспалительные цитокины выполняют различные функции в индукции и поддержании воспаления, включая инициацию острого воспаления и продукцию белков острой фазы, стимуляцию дифференцировки «наивных» Т-клеток в эффекторные CD4⁺ Т-клетки, экспансию патогенных Т-клеток с увеличением их цитотоксической активности, активацию и дифференцировку В-клеток с переключением их на продукцию IgG для выработки антибактериальных антител при хроническом воспалении и IgE при защите от гельминтов и развитии аллергии [1]. Содержание соответствующих цитокинов увеличивается в культуральной среде Т-лимфоцитов из собственной пластинки *in vitro* и в биоптатах слизистой оболочки толстой кишки больных ЯК и БК [12, 33].

Субпопуляции эффекторных CD4⁺ Т-клеток (Th1, Th2, Th17) отличаются профилем продуцируемых провоспалительных цитокинов.

Дифференцировку Th1-клеток направляет интерлейкин-12 (ИЛ-12), активированные Th1-клетки продуцируют транскрипционные факторы T-bet и STAT4. Эта субпопуляция Т-клеток ассоциирована с БК и характеризуется продукцией значительного количества интерферона IFN- γ и других провоспалительных интерлейкинов, включая ИЛ-12p40, ИЛ-18, ИЛ-2, фактор некроза опухоли (ФНО- α), ИЛ-1 β , ИЛ-6. CD4⁺ Т-клетки ответственны за реакции клеточного иммунитета (резистентность к внутриклеточным патогенам, гиперчувствительность замедленного типа и др.) и различные иммунопатологические состояния, включая ВЗК. ИЛ-23, другой цитокин Th1 типа, имеющий с ИЛ-12 общую цепь p40, направляет поляризацию субпопуляции Th17-клеток. Th17-клетки контролируются TGF- β (transforming growth factor, трансформирующий фактор роста) и ИЛ-6. Их функция связана с продукцией ИЛ-17A, ИЛ-17F, ИЛ-23, ИЛ-6, ИЛ-21, ФНО- α

и резистентностью к некоторым внеклеточным бактериям и грибам. Им принадлежит ведущая роль в патогенезе многих воспалительных заболеваний, включая экспериментальные колиты. Эти данные подтверждаются при введении больным БК антител к ИЛ-12p40. Введение антител вызывает снижение продукции не только макрофагами ИЛ-12 и ИЛ-23, но и Т-клетками IFN- γ , ИЛ-17, ИЛ-6 и ФНО- α [12, 34].

Развитие CD4⁺ Th2-клеток регулируется ИЛ-4, который при этом типе иммунного ответа продуцируется в сочетании с ИЛ-5, ИЛ-6, ИЛ-13 и ИЛ-25. Th2-клетки ответственны за реакции гуморального иммунитета, в том числе за резистентность к паразитам, развитие аллергии и астмы. Th2 тип иммунного ответа в его модифицированном виде является характерным для ЯК. ИЛ-4 как основной цитокин Th2 доминирует при развитии данного заболевания. Его длительное хроническое течение определяется ИЛ-13, который продуцируется NKT-клетками слизистой оболочки (Т-клетки, несущие маркеры естественных киллеров – NK-клеток). У больных ЯК увеличивается продукция ИЛ-13, который усиливает цитотоксический эффект NKT-клеток на эпителиальные клетки. Этот иммунопатологический механизм связывают с активацией NKT-клеток микрофлорой слизистой оболочки с развитием последующего цитолиза эпителиальных клеток и образованием язв [12, 34].

Роль цитокинов в развитии колитов установлена на экспериментальных моделях в основном при исследовании линий мышей, у которых не происходит продукции ИЛ-2, ИЛ-10 или TGF- β , а также при специфической таргетной терапии путем введения антител к ним (TNF- α , ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-12, ИЛ-18, ИЛ-23 и др.) или выключения рецептора цитокина его антагонистом (ИЛ-1) [12].

В развитии воспаления, особенно при БК, кроме указанных провоспалительных цитокинов, важную роль играет ИЛ-21. Этот интерлейкин продуцируется активированными CD4⁺ Т-клетками и NKT-клетками и опосредует свои функции через рецептор ИЛ-21R, состоящий из специфической единицы и общей гамма-цепи. ИЛ-21 стимулирует пролиферацию CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеток, дифференцировку В-клеток в клетки памяти и плазматические клетки, усиливает активность NK-клеток. Через сигнальные молекулы он активирует факторы транскрипции STAT1, STAT3 и др. Эпителиальные клетки, которые также экспрессируют ИЛ-21R, под влиянием ИЛ-21 увеличивают продукцию MIP-3 α (macrophage inflammatory protein, воспалительный белок макрофагов), который усиливает миграцию CD3⁺ Т-клеток из крови в пораженную слизистую оболочку. ИЛ-21 стимулирует секрецию фибробластами большого количества металлопротеиназ

MMP-1, -2, -3 и -9 (MMP, metalloproteinases), относящихся к группе нейтральных эндопептидаз, которые в активной форме расщепляют компоненты внеклеточного матрикса с развитием деструкции слизистой оболочки и нарушением ее восстановления. Стимуляция интерлейкинами миофибробластов и фибробластов сопровождается наряду с металлопротеиназами продукцией коллагена и других фибротических компонентов, что при глубоком поражении стенки кишечника ведет к их избыточному отложению и образованию стриктур [33].

Иммунорегуляторная (противовоспалительная) функция связана с регуляторными Т-клетками (Treg) и соответствующим профилем цитокинов (TGF- β , ИЛ-10, ИЛ-22, ИЛ-11, ИЛ-35). Иммунорегуляторные цитокины влияют на различные физиологические процессы (эмбриогенез, заживление раны и др.), поддерживают состояние иммунологической толерантности Т-клеток и продукцию IgA, подавляют антигенпредставительную функцию макрофагов и дендритных клеток, снижают продукцию провоспалительных цитокинов, проявляют протективный и лечебный эффект при экспериментальных колитах [24, 34].

Регуляторные Т-клетки, секретирующие TGF- β 1 или несущие его на своей мембране, подавляют провоспалительную активность Th1- и Th2-эффекторных клеток, ограничивают чрезмерный иммунный ответ на антигены микрофлоры и тормозят развитие экспериментального колита. При ВЗК человека TGF- β 1 подавляет развитие Th17-клеток, а ИЛ-21, напротив, противодействует развитию Treg-клеток. Регуляторные CD4⁺ Т-клетки присутствуют в виде двух субпопуляций: естественные Treg (nTreg) — вырабатываются в тимусе и адаптивные, или индуцированные Tregs (aTreg) — вырабатываются периферической иммунной системой. nTreg продуцируют белок-репрессор транскрипции Foxp3 (fork head transcription factor), обеспечивающий функцию супрессии. На своей поверхности nTreg экспрессируют CD25 и другие функциональные молекулы. aTreg состоят из двух субпопуляций — Tr1-клетки и Th3-клетки, которые продуцируют большое количество противовоспалительных цитокинов ИЛ-10 и TGF- β соответственно. Другие клетки (CD8⁺ Т-клетки, NK-, NKT- и В-клетки) также участвуют в регуляции иммунологического равновесия в кишечнике [1, 5, 34].

TGF- β 1 является доминантным регулятором воспаления кишечника. Он активирует клеточные мишени, контактируя со своими мембранными рецепторами. После взаимодействия белка с рецептором происходит фосфорилирование и активация Smad2 и Smad3, которые, образуя комплекс вместе с Smad4, проникают через ядерную мембрану и контролируют транскрипцию генов [18]. Группа сигнальных молекул (Smad) включа-

ет 9 белков, участвующих в контроле транскрипции определенных генов. Установлено, что Smad3 является медиатором противовоспалительной и супрессивной активности TGF- β 1. Инактивация Smad3 ассоциирована с развитием значительной инфильтрации Т-клетками и образованием абсцессов желудка и кишечника. Напротив, Smad7 выполняет функции антагониста TGF. Его экспрессия увеличена в Т-клетках слизистой оболочки толстой кишки больных ВЗК. Ингибция Smad7 при экспериментальном колите восстанавливала экспрессию Smad3 и функцию TGF- β , направленную на снижение активности эффекторных Th1-клеток (уровня цитокинов ИЛ-12, IFN- γ) и экспрессии Th1-ассоциированных транскрипционных факторов T-bet и Stat1 [33]. В экспериментах на мышах было показано, что отсутствие гена TGF- β 1 или блокада рецепторов TGF- β 1 на Т-лимфоцитах приводит к спонтанному колиту [15].

Основные факторы транскрипции, включая STAT3 (signal transducer and activator of transcription, передатчик сигнала и активатор транскрипции), играют важную роль в передаче сигналов воспалительных цитокинов в ядро. Супрессор цитокиновых сигналов (SOCS3) является главным физиологическим регулятором цитокин-опосредованного STAT3 сигнального каскада. SOCS3 относится к семейству SOCS, в которое входит 8 белков: CIS (цитокин-индуцированный SH2-содержащий белок) и SOCS1-7 [37]. SOCS ингибируют передачу сигнала Jak/STAT, формируя отрицательную обратную связь. На мышинных моделях ВЗК была показана повышенная экспрессия SOCS3, где она, по-видимому, определяла протяженность поражения. А повышенная экспрессия мПНК SOCS3 выявлялась в биопсийном материале у пациентов с язвенным колитом по сравнению с образцами нормальной слизистой [32].

Участие SOCS3 во врожденном иммунитете при ВЗК осуществляется посредством макрофагов, нейтрофилов и дендритных клеток. CD68-макрофаги, находящиеся в собственной пластинке, экспрессируют SOCS3 только у 11% здоровых людей, в то время как у пациентов с активными ВЗК — более чем в 40% случаев. Экспрессию SOCS3 в макрофагах индуцируют ИЛ-6, ЛПС, ФНО- α , ИФН- γ и бактериальные антигены [45]. В нейтрофилах, количество которых также увеличено в собственной пластинке у пациентов с ВЗК по сравнению со здоровыми людьми, экспрессию SOCS3 индуцирует гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (Г-КСФ) [20]. Повышенная экспрессия SOCS3 в нейтрофилах увеличивает апоптоз и снижает индуцированную ИФН- γ активацию нейтрофилов. В дендритных клетках дефицит SOCS3 приводит к стойкой активации STAT3 и, как следствие, к снижению экспрессии МНСII,

CD40, CD68, IL-12, повышению уровней TGF- β и индукции FoxP3-позитивных Treg-клеток [35].

Антибактериальная резистентность кишечника достигается также эффективным функционированием гуморального иммунитета, основным компонентом которого в иммунной системе слизистой оболочки является *секреторный IgA* (sIgA). Последний связывает бактериальные и пищевые антигены внутри слоя слизи на поверхности эпителия, снижает экспрессию иммунологически активных эпитопов в стенке бактериальных клеток, препятствует адгезии патогена и инвазии эпителиальных клеток, способствуя в итоге эффективному клиренсу патогенов дендритными клетками, макрофагами и нейтрофилами. При ВЗК уровень sIgA обычно снижается и компенсируется значительной секрецией IgG, который стимулирует продукцию провоспалительных цитокинов, антител к резидентной микрофлоре и может являться проводником аутоиммунного воспаления. При ЯК и БК количество IgG-продуцирующих клеток в собственной пластинке слизистой оболочки и уровень IgG в слизи существенно повышаются [2, 11].

Экспериментальные модели ВЗК

В последние 10–20 лет разработаны экспериментальные модели воспалительных заболеваний кишечника, которые развиваются спонтанно у мышей с определенным генотипом или в результате воздействия на геном (нокаутные, трансгенные мыши) и ассоциированы с утратой иммунной толерантности к аутологичной кишечной микрофлоре.

Модели экспериментальных ВЗК, основанные на активации врожденной иммунной системы, могут быть получены различными методами:

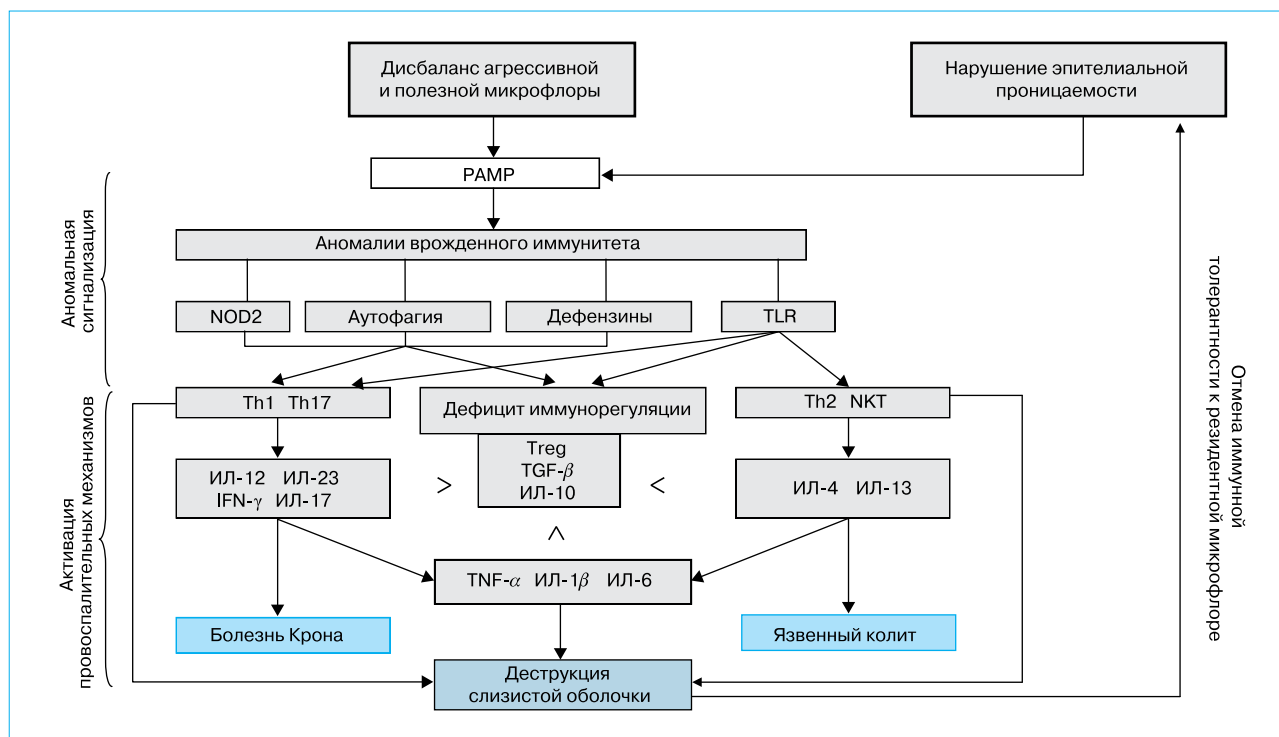
- повреждение эпителия химическими агентами, включая их роль в качестве гаптенов в иммунологических реакциях — DSS (dextran sulfate sodium, декстран сульфат натрия), TNBS (trinitrobenzenesulfonic acid, тринитробензолсульфоновая кислота);

- утрата компонентов эпителия (кератин 8-дефицитные мыши), слизи (муцин 2-дефицитные мыши), транспортного белка (мыши с дефицитом гена 1a множественной лекарственной резистентности);

- выключение сигнальных молекул, ведущее к нарушению баланса про- и противовоспалительных цитокинов (A20-дефицитные мыши, STAT73—/—дефицитные мыши) и др. В течение 5–12 нед у мышей развиваются различные по локализации и тяжести варианты энтероколита или колита с инфильтрацией стенки кишечника иммунокомпетентными клетками (нейтрофилы, CD4+ Т-клетки, В-клетки и др.) и увеличением продукции провоспалительных цитокинов IFN- γ , ФНО- α , ИЛ-1, ИЛ-12, хемокинов и их рецепторов [10, 44, 46].

Ко второй группе экспериментальных ВЗК относятся энтероколиты, которые развиваются при воздействиях на адаптивную иммунную систему и вызывают активацию эффекторной функции CD4+ Т-лимфоцитов. Одной из таких моделей являются STAT4 трансгенные мыши (STAT4 — фактор транскрипции, который активирует гены иммунного ответа типа Th1 с увеличением продукции IFN- γ). У мышей этой линии после дополнительной активации иммунной системы антигеном гемоцианином через 7–14 дней развивается энтероколит с глубоким трансмуральным воспалением и плотным инфильтратом CD4+ Т-клеток, продуцирующих IFN- γ и ФНО- α . Перенос активированных бактериальными антигенами CD4+ Т-клеток этих мышей иммунодефицитным реципиентам вызывал развитие колита. Другие варианты ВЗК этого типа наблюдаются при стимуляции роста незрелых и зрелых лимфоцитов, их дифференцировки с развитием патогенной эффекторной функции, в частности при высокой экспрессии ИЛ-7 (ИЛ-7-трансгенные мыши) или лиганда CD40 на лимфоцитах (CD40-лигандтрансгенные мыши), который активирует клетки, несущие рецептор CD40 («наивные» Т-клетки, В-клетки, макрофаги, моноциты) с увеличением продукции провоспалительных цитокинов. В последнем случае развивалось мультиорганное воспаление, включая энтероколит, который воспроизводился при переносе CD4+ Т-клеток от больных мышей [10, 27, 40].

Хронические ВЗК, развивающиеся вследствие нарушений в системе регуляторных субпопуляций, относятся к третьей группе моделей энтероколита. Основными моделями этой группы являются ВЗК у ИЛ-10-, ИЛ-2- и TGF- β 1-нокаутных мышей. ИЛ-10 относится к группе противовоспалительных цитокинов и подавляет эффекторные функции Th1-клеток, макрофагов и NK-клеток. У ИЛ-10-дефицитных мышей развиваются анемия и хронический энтероколит с выраженной инфильтрацией кишечника нейтрофилами, Т- и В-клетками, макрофагами и плазматическими клетками. Заболевание развивается прогрессивно, и у 60% мышей с колитом в возрасте старше 6 мес выявляются аденокарциномы толстой кишки. Колит переносится CD4+ Т-клетками. CD4+ Т-клетки ИЛ-10-дефицитных мышей, выведенных в стерильных условиях, после колонизации кишечника резидентной микрофлорой, продуцировали провоспалительные цитокины IFN- γ и ИЛ-17 в ответ на воздействие лигандов этих бактерий и их антигенов. Опыты с нейтрализацией провоспалительных интерлейкинов (ИЛ-12p40, ИЛ-23) и IFN- γ соответствующими антителами показали, что при дефиците ИЛ-10 основную роль в индукции колита играют Th17- и Th1-клетки. Активация макрофагов ведет к гиперпродукции ИЛ-1, ИЛ-6, TNF- α и ИЛ-17, которые



Основные факторы иммунопатогенеза воспалительных заболеваний кишечника

Слизистая оболочка кишечника находится в контакте с чрезвычайно большим количеством микроорганизмов и их PAMP. Нарушение кишечной проницаемости, особенно при болезни Крона, ведет к значительному увеличению контакта клеток иммунной системы с резидентной микрофлорой. Аномалии врожденного иммунитета, а именно мутации генов рецепторов PAMP (NOD2, TLR), аутофагии и дефицит антибактериальных кишечных дефензинов вызывают нарушения процессинга и представления антигенов, дисфункцию аутофагии, дефекты внутриклеточных сигнальных процессов и киллинга бактерий, инициируют активацию провоспалительных механизмов адаптивного иммунитета (отмена иммунной толерантности к резидентной кишечной микрофлоре). Стимулирующие цитокины направляют дифференцировку субпопуляций CD4+ Т-клеток с продукцией ими определенного профиля цитокинов и формированием соответствующего клинического фенотипа: Th1-клетки и Th17-клетки – при болезни Крона и Th2-клетки и NKT-клетки – при язвенном колите. Продукция цитокинов с высокой провоспалительной активностью (TNF-α, ИЛ-1β, ИЛ-6 и др.) в сочетании с недостаточностью функции иммунорегуляторных Т-клеток (Treg) и их цитокинов (TGF-β, ИЛ-10) наблюдается при обоих заболеваниях.

PAMP (pathogen associated molecular patterns) – патоген-ассоциированные молекулярные структуры (образы); NOD2 (nucleotide-binding oligomerization domain) – рецептор мурамилдипептида стенки бактерий; TLR (toll like receptors) – toll-подобные рецепторы, рецепторы различных структур микроорганизмов; NKT (natural killer T cells) – естественные киллерные Т-клетки; TNF-α (tumor necrosis factor) – фактор некроза опухоли; TGF-β (transforming growth factor) – трансформирующий фактор роста

обнаруживаются в пораженной ткани кишечника. У мышей, содержащихся в безмикробной среде, колит не развивался [29, 47].

ИЛ-2 выполняет важные функции в системе клеточного иммунитета, состоящие в стимуляции роста, миграции и апоптоза Т-клеток, дифференцировки В-клеток, активации макрофагов и NK-клеток. У ИЛ-2-дефицитных мышей в возрасте 5–9 нед наблюдаются спленомегалия, лимфоаденопатия и аутоиммунная гемолитическая анемия. У мышей старше 10 нед развивается панколит (диарея, периодические кровотечения, выпадение прямой кишки) с выраженной инфильтрацией стенки толстой кишки клетками острого и хронического воспаления, ее утолщением и образованием язв. Ведущим патогенным фактором являлись CD4+ Th1-клетки, что подтверждалось

высоким уровнем IFN-γ и ИЛ-12 в слизистой оболочке. Введение антител к ИЛ-12p40 предотвращало развитие колита. У безмикробных животных колит не наблюдался. Установлено, что у ИЛ-2-дефицитных мышей развивается недостаточность субпопуляции регуляторных CD4+CD25+ Т-клеток, которые ответственны за поддержание состояния периферической толерантности [10, 39]. Недостаточность соответствующей субпопуляции регуляторных клеток наблюдается также у TGF-β1-дефицитных мышей; у них обнаруживаются воспалительные поражения многих органов, включая кишечник [10].

Развитие колита зависело также от определенного соответствия видов микроорганизма и хозяина. Различные линии мышей реагировали неодинаково на одни и те же виды микроорганизмов; с

другой стороны, два разных вида бактерий могли индуцировать различные фенотипы воспаления у одного хозяина.

Таким образом, изучение экспериментальных энтероколитов показало, что у генетически чувствительных животных ВЗК могут быть индуцированы при различных воздействиях на врожденную и адаптивную системы иммунитета, направленных на увеличение экспрессии или, напротив, выключение продукции значимых иммунологических факторов, ведущих к нарушению иммунного баланса в сторону преобладания функций эффекторных CD4⁺ Т-клеток над регуляторными Treg (провоспалительных молекул над противовоспалительными) в их взаимодействии с кишечной микрофлорой.

Заключение

Микрофлора значительно влияет на структуру и функции иммунной системы слизистой оболочки кишечника; иммунная система, в свою очередь, оказывает влияние на состав и свойства микрофлоры. Врожденный иммунитет играет ведущую роль в регулировании барьерной функции эпителия кишечника по отношению к микрофлоре и ее компонентам. Физиологическое состояние кишечника является результатом баланса между эффекторными (Th1, Th2, Th17) и регуляторными (Treg) клетками, определяющими иммунологиче-

скую ареактивность (толерантность) по отношению к антигенам аутологичной микрофлоры.

Исследования экспериментальных энтероколитов подтверждают иммунологическую гипотезу патогенеза ВЗК человека — связь их развития с дефектами врожденной и адаптивной иммунной системы. Toll-подобные рецепторы являются главным компонентом врожденной иммунной системы в ее взаимодействии со структурами микроорганизмов. Патогенез ВЗК связан с изменением сигнальной функции данных рецепторов, а также рецепторов NOD2 и функции аутофагии при БК. Вследствие этого нарушаются трансмембранная и внутриклеточная рецепция бактериальных структур, процессинг антигенов микроорганизмов и внутриклеточная бактерицидность; инициируется патологическая активация врожденной и адаптивной иммунной системы с развитием хронического воспаления, опосредованного Th1-клетками (IFN- γ , ИЛ-12, ИЛ-23) и Th17-клетками (ИЛ-17) — при БК, Th2-клетками (ИЛ-4) и НКТ-клетками (ИЛ-13) — при ЯК и общими цитокинами с высокой провоспалительной активностью (ИЛ-1 β , ФНО- α , ИЛ-6, ИЛ-18 и др.). Таким образом, патогенез ВЗК можно рассматривать как дисбаланс указанных провоспалительных клеток и цитокинов и противовоспалительных (иммунорегуляторных) клеток Treg и цитокинов — TGF- β , ИЛ-10 (см. рисунок).

Список литературы

1. Караулов АВ, Быков СА, Быков АС. Иммунология, микробиология и иммунопатология кожи. — М., 2012. — С. 96–119.
1. Karaulov AV., Bykov SA. Bykov AS. Immunology, microbiology and immunopathology of skin. — М., 2012. — Р. 96–119.
2. Конович ЕА, Киркин БВ, Халиф ИЛ. IgG, IgM, IgA, секроторный IgA и комплемент C3, C4 и C9 в толстой кишке при неспецифическом язвенном колите и болезни Крона. Журн микробиол эпидемиол иммунол. 1987; 1:71–5.
2. Konovich EA., Kirkin BV., Khalif IL. IgG, IgM, IgA, secretory IgA and C3, C4 and C9 complement in the colon at ulcerative colitis and Crohn's disease. Zhurn mikrobiol epidemiol immunol. 1987; 1:71-5.
3. Фиокки К. Современные патогенетические аспекты воспалительных заболеваний кишечника. Байкальский форум по проблемам воспалительных заболеваний толстой кишки. — 2012:3–70.
3. Fiokki K. Modern pathogenic aspects of inflammatory bowel diseases. Baikal forum inflammatory bowel disease issues. — 2012. — Р. 3–70.
4. Abreu MT, Fukata M, Breglio K. Innate immunity and its implications on pathogenesis of inflammatory bowel disease. In: Inflammatory bowel disease / Eds. Targan SR, Shanahan F, Karp LC. — 2010:64–81.
5. Broot H, Peppelenbosch MP, Hommes DW. Immunology of Crohn's disease. Ann NY Acad Sci. 2006; 1072:135–54.
6. Cario E, Podolsky DK. Innate immune responses in inflammatory bowel disease. In: Immunoregulation in inflammatory bowel diseases. Falk sympos. 153 / Eds. Dignass A. et al. — 2006:3–11.
7. Cario E, Podolsky DK. Taking a tall on MD-2 in inflammatory bowel disease. In: Immunoregulation in inflammatory bowel diseases. Falk sympos. 153 / Eds. Dignass A. et al. — 2006:30–5.
8. Cario E, Podolsky DK. Toll-like receptor signaling and its relevans to intestinal inflammation. In: Inflammatory bowel disease / Eds. Domschke WW. et al. Ann NY Acad Sci. 2006; 1072:332–8.
9. Caron G, Duluc D, Freumaux I, et al. Direct stimulation of human T cells via TLR5 and TLR 7/8: flagellin and R-848 up-regulate proliferation and IFN-gamma production by memory CD4⁺ T cells. J Immunol. 2005; 175 (3):1551–7.
10. Elson ChO, Casey TW. In vivo models of inflammatory bowel diseases. In: Inflammatory bowel disease / Eds. Targan SR. et al. — 2010:25–51.
11. Fava F, Danese S. Intestinal microbiota in inflammatory bowel disease: Friend or foe? World J Gastroenterol. 2011; 17 (5):557–66.
12. Fuss IJ. The adaptive immune responses in inflammatory bowel disease. In: Inflammatory bowel diseases. Falk sympos. 153 / Eds. Dignass A. et al. — 2006:12–20.
13. Gardet A, Xavier RJ. Common alleles that influence autophagy and the risk for inflammatory bowel disease. Curr Opin Immunol. 2012; 24:522–9.
14. Giaradin SE, Boneca IG, Viala J, et al. NOD2 is a general sensor of peptidoglycan through muramyl dipeptide (MDP) detection. J Biol Chem. 2003; 278:8869–72.
15. Gorelik L, Flavell RA. Abrogation of TGF-beta signaling in T cells leads to spontaneous T cell differentiation and autoimmune disease. Immunity. 2000; 12:171–81.
16. Hart AL, Al-Hassi HO, Rigby RJ, et al. Characteristics of intestinal dendritic cells in inflammatory bowel diseases. Gastroenterology. 2005; 129 (1):50–65.

17. Hausmann M, Kiessling S, Mestermann S, et al. Toll-like receptors 2 and 4 are up-regulated during intestinal inflammation. *Gastroenterology*. 2002; 122 (7):1987–2000.
18. Hawinkels LJ, Ten Dijke P. Exploring anti-TGF- β therapies in cancer and fibrosis. *Growth Factors*. 2011; 29:140–52.
19. Hisamatsu T, Suzuki M, Reinecker HC, et al. CARD15/NOD2 functions as an antibacterial factor in human intestinal epithelial cells. *Gastroenterology*. 2003; 124:993–1000.
20. Hortner M, Nielsch U, Mayr LM, et al. Suppressor of cytokine signaling-3 is recruited to the activated granulocyte-colony stimulating factor receptor and modulates its signal transduction. *J Immunol*. 2002; 169:1219–27.
21. Hugot J-P. CARD 15/NOD2 Mutations in Crohn's disease. *Ann NY Acad Sci*. 2006; 1072:9–18.
22. Hwang S, Maloney NS, Bruinsma MW, et al. Nondegradative role of Atg5-Atg12/Atg16L1 autophagy protein complex in antiviral activity of interferon gamma. *Cell Host Microbe*. 2012; 11:397–409.
23. Inohara N, Ogura Y, Fontalba A, et al. Host recognition of bacterial muramyl dipeptide mediated through NOD2. Implications for Chron's disease. *J Biol Chem*. – 2003; 278:5509–12.
24. Izcue A, Coombes JL, Powrie F. Regulatory T cells suppress systemic and mucosal immune activation to control intestinal inflammation. *Immunol Rev*. 2006; 212:256–71.
25. Janeway CA, Medzhidov R. Innate immune recognition. *Annu Rev Immunol*. 2002; 20:197–216.
26. Kaser A, Blumberg RS. Autophagy, microbial sensing, endoplasmic reticulum stress, and epithelial function in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*. 2011; 140 (6):1738–47.
27. Kawamura T, Kanai T, Dohi T, et al. Ectopic CD40 ligand expression on B cells triggers intestinal inflammation. *J Immunol*. 2004; 172:6388–97.
28. Kufer TA, Banks DJ, Philpott DJ. Innate immune sensing of microbes by NOD proteins. *Ann NY Acad Sci*. 2006; 1072:19–27.
29. Kuhn R, Lohler J, Rennick D, et al. Interleukin-10 – deficient mice develop chronic enterocolitis. *Cell*. 1993; 75:263–74.
30. Lee J, Mo JH, Katakura K, et al. Maintenance of colonic homeostasis by distinctive apical TLR9 signaling in intestinal epithelial cells. *Nat Cell Biol*. 2006; 8 (12):1327–36.
31. Levine B, Mizushima N, Virgin HW. Autophagy in immunity and inflammation. *Nature*. 2011; 469:323–35.
32. Li Y, de Haar C, Peppelenbosch MP, van der Woude CJ. SOCS3 in immune regulation of inflammatory bowel disease and inflammatory bowel disease-related cancer. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2012; 23:127–38.
33. MacDonald TT, Monteleone G. Adaptive immunity: Effector and inhibitory cytokine pathways in gut inflammation. In: *Inflammatory bowel disease* / Eds. Targan SR, et al. – 2010:82–91.
34. Maillard MH, Snapper SB. Cytokines and chemokines in mucosal homeostasis. In *Inflammatory bowel disease* / Eds. Targan SR, et al. – 2010:119–56.
35. Matsumura Y, Kobayashi T, Ichiyama K, et al. Selective expansion of foxp3-positive regulatory T cells and immunosuppression by suppressors of cytokine signaling 3-deficient dendritic cells. *J Immunol*. 2007; 179:2170–9.
36. Obermeier F, Dunger N, Deml L, et al. CpG motifs of bacterial DNA exacerbate colitis of dextran sulfate sodium-treated mice. *Eur J Immunol*. 2002; 32 (7):2084–92.
37. Piesseaux J, Lavens D, Peelman F, et al. The many faces of the SOCS box. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2008; 19:371–81.
38. Rumio C, Besusso D, Palazzo M. Degranulation of paneth cells via toll-like receptor 9. *Am J Pathol*. 2004; 165 (2):373–81.
39. Takedatsu H, Taylor KD, Mei L, et al. Linkage of CD-related serological phenotypes: NFKB1 haplotypes are associated with anti-*CBir1* and ASCA and show reduced NF- κ B activation. *Gut*. 2009; 58:60–7.
40. Totsuka T, Kanai T, Nemoto Y, et al. IL-7 is essential for the development and the persistence of chronic colitis. *J Immunol*. 2007; 178:4737–48.
41. Vijay-Kumar M, Sanders CJ, Taylor RT, et al. Detection of TLR5 results in spontaneous colitis in mice. *J Clin Invest*. 2007; 117 (12):3909–21.
42. Vijay-Kumar M, Wu H, Aitken J, et al. Activation of toll-like receptor 3 protects against DSS-induced acute colitis. *Inflamm Bowel Dis*. 2007; 13 (7):856–64.
43. Wehkamp J, Schmid M. Defensin deficiency, intestinal microbes and clinical phenotypes of Crohn's disease. *J Leukocyte Biol*. 2005; 77:460–5.
44. Welte T, Zhang SS, Wang T, et al. STAT3 deletion during hematopoiesis causes Crohn's disease-like pathogenesis and lethality: a critical role of STAT3 in innate immunity. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2003; 100:1879–84.
45. White GE, Cotterill A, Addley MR, et al. Suppressor of cytokine signalling protein SOCS3 expression is increased at sites of acute and chronic inflammation. *J Mol Histol*. 2010; 42:137–51.
46. Wirtz S, Neufert C, Weigmann B, Neurath MF. Chemically induced mouse models of intestinal inflammation. *Nat Protoc*. 2007; 2:541–6.
47. Yen D, Cheung J, Scheerens H, et al. IL-23 is essential for T cell-mediated colitis and promotes inflammation via IL-17 and IL-6. *J Clin Invest*. 2006; 116:1310–6.
48. Zeissig S, Bürgel N, Günzel D, et al. Changes in expression and distribution of claudin 2, 5 and 8 lead to discontinuous tight junctions and barrier dysfunction in active Crohn's disease. *Gut*. 2007; 56 (1):61–72.