

· 临床基础 ·

## 紧密连接蛋白 occludin、ZO-1 在溃疡性结肠炎中的表达及其临床意义

谭悦, 郑长清\*

中国医科大学附属盛京医院, 辽宁 沈阳 110022

**摘要:** 目的 研究溃疡性结肠炎患者肠道紧密连接蛋白 occludin、ZO-1 的表达及其临床意义。方法 收集 2014 年 1 月—2017 年 10 月在中国医科大学附属盛京医院住院的溃疡性结肠炎患者临床资料和组织标本作为观察组, 共 80 例, 手术切除后经病理学证实的正常断端结肠组织 20 例, 作为对照组。观察组按照 Mayo 临床评分 (MCS) 分为临床缓解组、轻度活动期组、中度活动期组、重度活动期组。免疫组织化学法检测肠道紧密连接蛋白 occludin、ZO-1 表达情况, 并分析其与临床参数的相关性。结果 MCS 和 Mayo 内镜评分 (MCSe) 在临床缓解组、轻度活动期组、中度活动期组、重度活动期组呈上升趋势, 各组间差异均具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。与对照组比较, 各观察组均显著升高 ( $P < 0.05$ ), Geboes 指数在各组中呈上升趋势, 各组间差异均具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。与对照组比较, 紧密连接蛋白 (occludin 和 ZO-1) 在观察组中的表达下降。ZO-1、occludin 的表达与 MCS、MCSe、Geboes 指数、C-反应蛋白 (CRP) 呈负相关。结论 紧密连接蛋白 ZO-1、occludin 可能会成为评估溃疡性结肠炎患者肠道炎症程度和预测黏膜愈合的指标。

**关键词:** 溃疡性结肠炎; 紧密连接蛋白; occludin; ZO-1; 黏膜愈合

中图分类号: R975 文献标志码: A 文章编号: 1674 - 5515(2018)07 - 1803 - 06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2018.07.055

## Expression and clinical significance of tight junction protein occludin and ZO-1 in ulcerative colitis

TAN Yue, ZHENG Chang-qing

Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110022, China

**Abstract: Objective** To study expression and clinical significance of intestinal tight junction (TJ) protein occludin and ZO-1 in patients with ulcerative colitis (UC). **Methods** The clinical data and colonic biopsies of UC in Shengjing Hospital of China Medical University from January 2014 to October 2017 were collected as the experimental group, and 80 cases were treated by pathology, and 20 cases of normal distal colon after resection were confirmed as the control group. The experimental group was divided into clinical remission group, mild activity group, moderate activity group, and severe activity stage group according to Mayo clinical score (MCS). The expressions of TJ proteins which included occluding and ZO-1 were assessed by immunohistochemistry, and its correlation with clinical characteristics were also analyzed. **Results** MCS and Mayo endoscopic subscore (MES) showed an upward trend in the clinical remission group, the mild activity period group, the moderate activity stage group, and the severe active stage group, and the differences were statistically significant ( $P < 0.05$ ). Compared with the control group, all experimental groups were significantly decreased ( $P < 0.05$ ), and the Geboes indexes in the remission group, the mild active period group, the moderate active stage group, and the severe active stage group were increased, and the differences were statistically significant ( $P < 0.05$ ). Compared with the control group, the expressions of TJ protein (occludin and ZO-1) were increased in the experimental group. The expressions of ZO-1 and occludin were negatively correlated with MCS, MCSe, Geboes index, and C-reactive protein (CRP). **Conclusion** TJ proteins (Zo-1 and occludin) might be an potential indicator of intestinal inflammation and prognosis of UC.

**Key words:** ulcerative colitis; tight junction; occluding; ZO-1; mucosal healing

收稿日期: 2018-02-24

基金项目: 辽宁省自然科学基金资助项目 (20170540529)

作者简介: 谭悦, 女, 辽宁沈阳人, 主治医师, 博士, 研究方向为炎症性肠病基础与临床。E-mail: tanyue2006@163.com

\*通信作者 郑长清, 男, 辽宁沈阳人, 教授, 博士, 研究方向为炎症性肠病基础与临床。E-mail: zhengchangqing88@163.com

炎症性肠病是一组肠道慢性非特异性炎症性疾病,包括溃疡性结肠炎和克罗恩病。溃疡性结肠炎是炎症性肠病中最常见的疾病类型,其发病率高于克罗恩病<sup>[1]</sup>。溃疡性结肠炎临床表现以腹痛、腹泻、黏液脓血便为主,有反复发作、无法治愈和致残性等特点,成为当今消化领域的研究热点。溃疡性结肠炎病变主要局限于结直肠黏膜以及黏膜下层。研究表明,肠上皮屏障功能障碍在溃疡性结肠炎发病机制中发挥重要作用<sup>[1-2]</sup>。紧密连接(tight junction, TJ)是肠上皮屏障的重要组成部分,能够调节肠上皮屏障选择性通透作用,防止肠腔内致病性抗原进入黏膜固有层引起肠道、周身的炎症和免疫反应。TJ是由多种蛋白组成的复合体,包括跨膜蛋白、外周膜蛋白和细胞骨架蛋白等<sup>[3]</sup>。occludin蛋白是跨膜蛋白的主要成员,负责调控TJ的通透性、维持细胞极性。外周膜蛋白(zonula occludens, ZOs)属于外周膜蛋白家族,主要通过连接claudins、occludin和细胞骨架蛋白维持TJ复合体的完整性。近年来,黏膜愈合成为溃疡性结肠炎的治疗目标<sup>[4-5]</sup>,有助于维持长时间的临床缓解,降低复发率<sup>[6]</sup>。以往黏膜愈合通常指内镜下愈合,但部分内镜下愈合者的组织学仍然存在急性炎症浸润,显著影响患者预后和复发率<sup>[7]</sup>。肠上皮屏障功能障碍能够激活黏膜免疫反应,引起或加重免疫反应介导的结肠炎症。研究显示,炎症性肠病患者肠黏膜TJ蛋白表达异常常发生于炎症性肠病早期阶段和复发前<sup>[8]</sup>,TJ的完整性可能对黏膜愈合发挥重要作用。但TJ蛋白的表达与肠道炎症活动、黏膜愈合关系的研究尚少。本研究从临床特征、内镜表现、病理组织学评分等方面评估溃疡性结肠炎患者病情、肠道黏膜愈合情况,检测肠道TJ蛋白的表达,探讨肠道炎症活动与TJ蛋白表达的关系。

## 1 资料与方法

### 1.1 试剂

兔抗ZO-1多克隆抗体(货号sc-10804)、鼠抗occludin单克隆抗体(货号sc-133256)购自Santa Cruz Biotechnology;即用型快速免疫组化Max Vision检测试剂盒(批号KIT-5051,迈新试剂);DAB显色试剂盒(批号P0203)、一抗稀释液(批号P0103)购自碧云天生物技术有限公司。

### 1.2 对象和方法

收集2014年1月—2017年10月在中国医科大学附属盛京医院住院的溃疡性结肠炎患者临床资料

和组织标本作为观察组,共80例,将患者分为3个年龄组:青年组 $\leq 39$ 岁,中年组40~59岁,老年组 $\geq 60$ 岁。溃疡性结肠炎的诊断结合临床、内镜和组织病理学表现进行综合分析,在排除感染性和其他非感染性结肠炎的基础上作出诊断<sup>[9]</sup>。

患者临床资料包括性别、年龄、病变范围蒙特利尔分型<sup>[10]</sup>;内镜评分采用Mayo内镜评分(Mayo Clinic endoscopic subscore, MCS<sub>e</sub>)<sup>[11]</sup>;观察组按Mayo临床评分(Mayo Clinic Score, MCS)进行疾病活动性的严重程度分期,分为4组,即临床缓解期、轻度活动期、中度活动期、重度活动期<sup>[11]</sup>。肠镜检查当天检测患者血清C-反应蛋白(CRP)。因结肠息肉或结肠癌行手术切除后经病理学证实的正常断端结肠组织作为对照组,共20例。观察组和对照组均行肠镜检查。溃疡性结肠炎患者取直肠、乙状结肠溃疡边缘或炎症最重处肠组织标本3块,对照组取直肠、乙状结肠处组织标本3块,所得结肠组织固定于4%多聚甲醛,进行组织学和免疫组织化学检测。本研究经中国医科大学附属盛京医院伦理委员会批准,所有患者均知情同意。

### 1.3 组织学评估

结肠组织固定在4%多聚甲醛中,常规石蜡包埋,4 $\mu\text{m}$ 切片,HE染色后在光学显微镜下观察,参照Geboes指数评分<sup>[12]</sup>对各切片进行组织学损伤评分,每个切片随机选取3个以上高倍视野( $\times 200$ ),由两名经过培训的胃肠道病理科医生盲法评分,取平均值作为最终结果。

### 1.4 组织学和内镜下黏膜愈合的定义

组织学黏膜愈合采用Geboes指数0或1分的标准<sup>[12]</sup>,内镜下黏膜愈合采用MCS<sub>e</sub>评分0或1分标准<sup>[13]</sup>。本研究对于黏膜愈合的定义采取更严格的标准,即黏膜愈合需同时满足内镜下和组织学黏膜愈合<sup>[14]</sup>。

### 1.5 免疫组织化学

结肠组织固定于4%多聚甲醛固定液中,经梯度乙醇溶液脱水、二甲苯透明后,石蜡中浸蜡和包埋,石蜡切片厚度2.5 $\mu\text{m}$ 。65 $^{\circ}\text{C}$ 烤箱烤片,过夜,再经二甲苯和梯度乙醇溶液脱蜡。使用柠檬酸钠缓冲液,并用微波炉加热对切片进行抗原热修复,3%双氧水封闭内源性过氧化物酶,血清封闭非特异性抗原。加一抗:兔抗ZO-1(1:75),鼠抗occludin(1:100),阴性对照组中加入磷酸盐缓冲液,4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜。后加入辣根过氧化物酶(HRP)标记的鼠兔

通用二抗，之后经 DAB 显色、苏木素复染、流水返蓝、梯度酒精溶液和二甲苯脱水，盖玻片封片。显微镜下，在 40×物镜下随机选择 3 个以上视野拍照，并应用 Image Plus 软件半定量测量切片平均吸光度值，用于结果判定。

### 1.6 统计学分析

采用 SPSS 20.0 软件对数据进行分析，计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示，多组间样本比较采用单因素方差分析 (ANOVA)，若存在统计学差异，进一步应用 LSD 法进行两两比较。相关性分析采用 Pearson 相关分析。定性资料以绝对数或相对数表示，采用  $\chi^2$  检验进行分析。

## 2 结果

### 2.1 研究对象的临床特征

本研究共纳入 100 例研究对象，其中对照组 20

例，观察组 80 例。观察组按 MCS 评分分为轻度、中度、重度活动期组和临床缓解期组。对照组和观察组的年龄、男女性别构成无统计学差异，各观察组患者的病程差异无统计学差异。MCS 在临床缓解组、轻度活动期组、中度活动期组、重度活动期组呈上升趋势，各组间差异均具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )；MCSe 在上述 4 组中评分逐渐增高，各组间差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )；各组血清 CRP 值逐渐升高，缓解期组与重度活动期组比较差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )，各活动期组之间比较差异无统计学意义。根据 Geboes 指数进行组织学评分，与对照组比较，各观察组均显著升高 ( $P < 0.05$ )，Geboes 指数在缓解组、轻度活动期组、中度活动期组、重度活动期组中呈上升趋势，各组间差异均具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 1。

表 1 研究对象的临床特征  
Table 1 Clinical features of the study subjects

组别	分期	n/例	年龄/岁	病程/年	男女性别构成/例	病变范围		
						E1	E2	E3
对照	—	20	39.2±10.6	—	9/11	—	—	—
观察	临床缓解	23	37.7±11.9	3.5±1.1	10/13	15	—	—
	轻度活动期	20	40.2±12.9	3.6±1.9	9/11	14	5	1
	中度活动期	18	40.9±11.9	4.3±2.3	10/8	0	7	11
	重度活动期	19	43.5±11.9	3.8±2.6	9/10	0	3	16
组别	分期	MCS	MCSe	CRP/(mg·L <sup>-1</sup> )	Geboes	Geboes≤1/例	Geboes>1/例	
对照	—	—	—	—	0.4±0.2	18	2	
观察	临床缓解	1.1±1.0	0.8±0.6	3.3±0.3	1.2±0.7 <sup>Δ</sup>	7	16	
	轻度活动期	4.5±0.8 <sup>*</sup>	1.8±0.3 <sup>*</sup>	3.8±1.2	2.5±0.7 <sup>Δ*</sup>	0	20	
	中度活动期	8.4±0.9 <sup>*#</sup>	2.4±0.5 <sup>*#</sup>	9.8±2.6	3.2±0.4 <sup>Δ*#</sup>	0	18	
	重度活动期	11.6±0.4 <sup>*#▲</sup>	3.0±0.0 <sup>*#▲</sup>	50.7±11.7 <sup>*#▲</sup>	3.8±0.6 <sup>Δ*#▲</sup>	0	19	

与对照组比较：<sup>Δ</sup> $P < 0.05$ ；与临床缓解组比较：<sup>\*</sup> $P < 0.05$ ；与轻度活动期组比较：<sup>#</sup> $P < 0.05$ ；与中度活动期组比较：<sup>▲</sup> $P < 0.05$   
<sup>Δ</sup> $P < 0.05$  vs control group; <sup>\*</sup> $P < 0.05$  vs clinical remission group; <sup>#</sup> $P < 0.05$  vs mild activity group; <sup>▲</sup> $P < 0.05$  vs moderate activity group

### 2.2 免疫组织化学

TJ 蛋白 occludin 在对照组、临床缓解组的肠上皮和腺上皮细胞膜以及膜内近侧的胞质区呈阳性表达，见较多棕黄色染色，活动期患者肠上皮和腺上皮细胞 occludin 表达呈下降趋势，提示随着炎症程度加重，occludin 蛋白表达减少。ZO-1 在对照组的肠上皮和腺上皮细胞胞质区及细胞膜呈阳性表达，见较多棕黄色染色，缓解期、活动期溃疡性结肠炎患者的 ZO-1 表达减少，提示随着炎症程度加重，

ZO-1 蛋白表达减少。见图 1。

应用 Image Plus 软件半定量测量切片累积吸光度值。结果显示，缓解期与对照组比较，occludin 蛋白表达显著减少 ( $P < 0.01$ )；活动期与缓解期、对照组比较，肠道 occludin 蛋白表达均显著下降 ( $P < 0.01$ )。活动期与缓解期、对照组比较，ZO-1 蛋白表达显著下降 ( $P < 0.01$ )；缓解期中非黏膜愈合组与黏膜愈合组比较，ZO-1 表达显著下降 ( $P < 0.01$ )，见表 2。

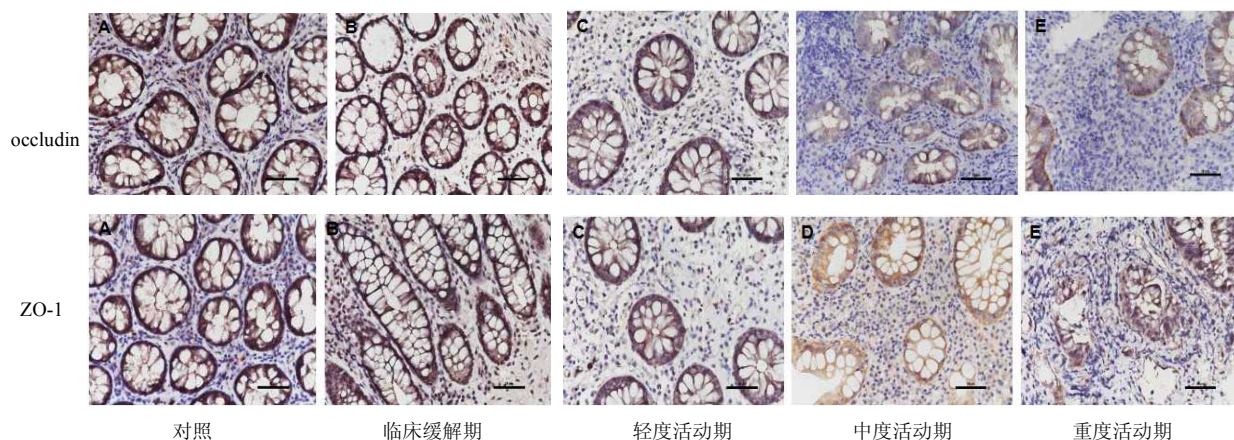


图1 免疫组织化学检测相关蛋白表达 (标尺 50 μm)

Fig. 1 Protein expression of immunohistochemical detection (scale 50 μm)

表2 免疫组化检测 occludin 和 ZO-1 的累积吸光度值

Table 2 Cumulative optical density values of occludin and ZO-1 in immunohistochemistry

组别	分期	n/例	ZO-1	occludin
对照		20	117.11 ± 6.64	194.78 ± 7.30
缓解期	黏膜愈合	7	107.77 ± 10.7**	152.08 ± 3.76**
	非黏膜愈合	16	93.05 ± 7.09**#	150.33 ± 3.85**
活动期		57	76.48 ± 6.20**##ΔΔ	89.26 ± 12.28**##ΔΔ

与对照组比较: \*\*P < 0.01; 与黏膜愈合组比较: ##P < 0.01; 与非黏膜愈合组比较: ΔΔP < 0.01

\*\*P < 0.01 vs control group; ##P < 0.01 vs mucous healing group; ΔΔP < 0.01 vs non-mucosal healing group

### 2.3 紧密连接蛋白与临床数据的相关性分析

观察组 ZO-1、occludin 的表达量与 MCS、MCSe、CRP、Geboes 指数呈显著负相关, 观察组中 occludin、ZO-1 的表达与年龄、性别均无相关性, 见表 3。不同性别和年龄分组中紧密连接蛋白的表达情况见表 4。

表3 紧密连接蛋白表达与临床数据的相关系数

Table 3 Correlation coefficients of tight junction protein expression and clinical data

特征	相关系数	
	occludin	ZO-1
MCS	-0.889 1**	-0.670 5**
MCSe	-0.833 5**	-0.637 4**
Geboes	-0.882 1**	-0.761 4**
CRP	-0.347 2*	-0.323 7*
年龄	-0.101 1	-0.064 1
性别	-0.067 1	-0.080 1

两组间比较: \*P < 0.05、\*\*P < 0.01

\*P < 0.05 \*\*P < 0.01 between two groups

表4 不同性别和年龄分组中紧密连接蛋白的表达情况

Table 4 Expression of tight junction protein in different genders and age groups

特征	分组	occludin	ZO-1
性别	男	127.36 ± 46.03	97.33 ± 20.47
	女	121.34 ± 43.98	88.34 ± 16.63
年龄	青年	119.84 ± 45.08	89.76 ± 19.76
	中年	131.39 ± 44.49	91.64 ± 18.64
	老年	103.39 ± 43.00	79.54 ± 12.55

### 3 讨论

溃疡性结肠炎的发病机制尚未完全阐明, 大量研究表明, 肠上皮屏障功能障碍是溃疡性结肠炎的重要致病因素<sup>[1-2]</sup>。肠道机械屏障是长上皮屏障的重要组成部分, 主要由肠道上皮细胞、肠道黏液层和细胞间连接所构成, 后者包括 TJs、黏附连接和细胞桥粒等<sup>[15]</sup>。TJs 是位于相邻上皮细胞连接顶侧面的蛋白复合体, 由跨膜蛋白 occludin、claudins、连接黏附分子 (junctional adhesion molecule, JAM) 和外周膜蛋白 (ZO) 以及肌动蛋白 (actin)、肌球

蛋白(myosin)、蛋白激酶C(protein kinase C, PKC)等细胞骨架蛋白和信号分子构成。TJs 封闭了相邻上皮细胞顶端的细胞旁路<sup>[16]</sup>, 保持了上皮屏障的完整性, 并能调节上皮屏障选择性的通透作用, 对维持黏膜内稳态发挥重要作用。有研究表明, 肠黏膜屏障通透性升高常发生于炎症性肠病发病早期或复发之前, 非活动期的炎症性肠病患者如伴有上皮通透性增高, 则疾病复发几率明显增高<sup>[8]</sup>。因此 TJ 功能异常是炎症性肠病发病的关键因素, 甚至是疾病起始和复发的始动因素<sup>[9,17]</sup>。本研究采用免疫组织化学方法检测了紧密连接蛋白 occludin 和 ZO-1 的表达。occludin 是最先鉴别出的跨膜紧密连接蛋白, 能够连接 claudins 和细胞 actin, 具有封闭相邻细胞间隙、调控物质的细胞旁转运以及调节信号转导分子聚集等作用。occludin 通常表达于肠上皮细胞、腺体细胞的表面、胞浆, 偶见细胞核。ZO-1 属于膜相关鸟苷酸激酶(MAGUK)家族成员, 属于 PDZ 解构域蛋白, 是一种外周膜蛋白, 有 ZO-1、ZO-2、ZO-3 3 种异构体。在上皮细胞中 ZO-1 一端与胞质内的 claudins、occludin、JMA 等连接, 另一端与肌动蛋白细胞骨架成分结合, 将胞质蛋白与细胞骨架系统稳定的连接在一起。ZO-1 正常表达在肠上皮和腺上皮的近细胞膜胞质中, 偶可在细胞核中检测到。ZO-1 对相邻细胞间的渗透作用、细胞信号转导、基因转录以及调节细胞增殖、分化和生长都至关重要<sup>[18]</sup>。研究表明, ZO-1 在炎症性肠病中表达下降, 葡聚糖硫酸钠诱导小鼠结肠炎模型中, ZO-1 蛋白表达下降和上皮通透性的增加先于明显的结肠炎症而出现, 表明 TJ 功能异常可能是炎症性肠病发病的始动因素。在本研究中, 活动期与缓解期、对照组比较, 肠道 occludin 和 ZO-1 蛋白表达呈显著下降, occludin 和 ZO-1 的表达量与 MCS、CRP、MCSe 均呈负相关。实验还发现, occludin 和 ZO-1 的表达量与 Geboes 指数负相关。这些结果表明, 炎症性肠病发病过程中, 可能部分由于 occludin 和 ZO-1 的表达下降, 导致肠上皮屏障功能异常, 引起肠道炎症和免疫反应, 进而造成肠黏膜内镜下和组织学损伤。

目前, 黏膜愈合被视为溃疡性结肠炎的治疗目标<sup>[3-4]</sup>。黏膜愈合有助于更长时间免于使用糖皮质激素诱导临床缓解<sup>[19]</sup>, 能够降低结肠切除手术的几率。关于溃疡性结肠炎患者黏膜愈合的定义目前尚未达成共识, 患者症状的缓解与内镜下愈合并不完

全一致, 目前大部分研究将 MCSe 评分的 0、1 分视为达到内镜下愈合, 但研究表明, 内镜下愈合与组织学表现并不完全一致, 如存在任何程度的组织学炎症的患者与达到组织学缓解的患者比较, 有更高的疾病复发风险和远期结肠切除的几率。有研究发现, 如果内镜和组织学同时达到黏膜愈合, 会使临床缓解期进一步延长<sup>[20]</sup>。本研究参照 Arijs 等<sup>[14]</sup>的研究, 采用更严格的评定标准评估黏膜愈合, 即 Geboes 指数评价组织学损伤, 0~1 分视为组织学愈合, 应用 MCSe 评价内镜表现, 0 或 1 分视为内镜下愈合, 同时达到上述标准定义为黏膜愈合。实验发现, 临床缓解患者中, 30.4%达到了组织学黏膜愈合。有研究表明, 肠黏膜屏障通透性升高可发生于炎症性肠病发病早期或者复发之前, TJ 蛋白表达异常引起的上皮屏障功能障碍可能是炎症性肠病发病的始动因素<sup>[8]</sup>。研究发现, 黏膜愈合与肠上皮屏障功能密切相关, 葡聚糖硫酸钠诱导小鼠结肠炎模型中, ZO-1 蛋白表达下降和上皮通透性增加先于明显的结肠炎症而出现。有研究显示, 伴随炎症性肠病(腹痛)症状的临床缓解期炎症性肠病患者较不伴随 IBS 症状的临床缓解期患者, 结肠组织中有更多的炎细胞浸润, 并表现出上皮屏障通透性增高, TJ 蛋白 ZO-1、occludin 基因表达降低<sup>[17]</sup>。因此推测 TJ 蛋白完整性对维持黏膜愈合至关重要, 在临床缓解期患者中, 达到黏膜愈合者与非黏膜愈合者比较, TJ 蛋白的表达可能有所不同。实验发现, 在达到临床缓解的患者中, 达到黏膜愈合与非黏膜愈合患者比较, 肠组织中 ZO-1 表达增强, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。结果表明, 在达到临床缓解, 但尚未达到黏膜愈合的溃疡性结肠炎患者存在肠黏膜 TJ 蛋白表达异常, 提示 TJ 蛋白的表达可能是评价是否达到黏膜愈合的重要指标, 且针对 TJ 的治疗策略, 有可能使炎症性肠病患者达到并维持黏膜愈合这一目标更有望实现。

综上所述, 溃疡性结肠炎患者较对照组紧密连接蛋白 occludin、ZO-1 在表达下调, 且与黏膜愈合相关指标(MCSe、Geboes 指数)有显著相关性, 提示紧密连接蛋白在黏膜愈合中发挥重要作用, 有可能成为评估溃疡性结肠炎患者肠道炎症程度以及评估预后和复发的重要临床指标。

#### 参考文献

- [1] Danese S, Fiocchi C. Ulcerative colitis [J]. *N Engl J Med*, 2011, 365(18): 1713-1725.

- [2] Pope J L, Bhat A A, Sharma A, *et al.* Claudin-1 regulates intestinal epithelial homeostasis through the modulation of Notch-signalling [J]. *Gut*, 2014, 63(4): 622-634.
- [3] Turner J R. Intestinal mucosal barrier function in health and disease [J]. *Nat Rev Immunol*, 2009, 9(11): 799-809.
- [4] Riddell R H. IBD: Mucosal healing in ulcerative colitis: what constitutes remission? [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2017, 14(1): 5-6.
- [5] Peyrin-Biroulet L, Bressenot A, Kampman W. Histologic remission: the ultimate therapeutic goal in ulcerative colitis? [J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2014, 12(6): 929-934.
- [6] Shah S C, Colombel J F, Sands B E, *et al.* Mucosal healing is associated with improved long-term outcomes of patients with ulcerative colitis: A systematic review and Meta-analysis [J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2016, 14(9): 1245-1255.
- [7] Bryant R V, Burger D C, Delo J, *et al.* Beyond endoscopic mucosal healing in UC: histological remission better predicts corticosteroid use and hospitalisation over 6 years of follow-up [J]. *Gut*, 2016, 65(3): 408-414.
- [8] Du J, Chen Y, Shi Y, *et al.* 1,25-Dihydroxyvitamin D protects intestinal epithelial barrier by regulating the myosin light chain kinase signaling pathway [J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2015, 21(11): 2495-2506.
- [9] Ooi C J, Fock K M, Makharia G K, *et al.* The Asia-Pacific consensus on ulcerative colitis [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2010, 25(3): 453-468.
- [10] Satsangi J, Silverberg M S, Vermeire S, *et al.* The Montreal classification of inflammatory bowel disease: controversies, consensus, and implications [J]. *Gut*, 2006, 55(6): 749-753.
- [11] D'Haens G, Sandborn W J, Feagan B G, *et al.* A review of activity indices and efficacy end points for clinical trials of medical therapy in adults with ulcerative colitis [J]. *Gastroenterology*, 2007, 132(2): 763-786.
- [12] Geboes K, Riddell R, Ost A, *et al.* A reproducible grading scale for histological assessment of inflammation in ulcerative colitis [J]. *Gut*, 2000, 47(3): 404-409.
- [13] Rutgeerts P, Sandborn W J, Feagan B G, *et al.* Infliximab for induction and maintenance therapy for ulcerative colitis [J]. *N Engl J Med*, 2005, 353(23): 2462-2476.
- [14] Arijs I, De Hertogh G, Lemmens B, *et al.* Effect of vedolizumab (anti- $\alpha 4\beta 7$ -integrin) therapy on histological healing and mucosal gene expression in patients with UC [J]. *Gut*, 2018, 67(1): 43-52.
- [15] Luissint A C, Parkos C A, Nusrat A. Inflammation and the intestinal barrier: leukocyte-epithelial cell interactions, cell junction remodeling, and mucosal repair [J]. *Gastroenterology*, 2016, 151(4): 616-632.
- [16] Sánchez de Medina F, Romero-Calvo I, Mascaraque C, *et al.* Intestinal inflammation and mucosal barrier function [J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2014, 20(12): 2394-2404.
- [17] Piche T, Barbara G, Aubert P, *et al.* Impaired intestinal barrier integrity in the colon of patients with irritable bowel syndrome: involvement of soluble mediators [J]. *Gut*, 2009, 58(2): 196-201.
- [18] Gong Y, Li H, Li Y. Effects of *Bacillus subtilis* on Epithelial Tight Junctions of Mice with Inflammatory Bowel Disease [J]. *J Interferon Cytokine Res*, 2016, 36(2): 75-85.
- [19] Lau W L, Liu S M, Pahlevan S, *et al.* Role of Nrf2 dysfunction in uremia-associated intestinal inflammation and epithelial barrier disruption [J]. *Dig Dis Sci*, 2015, 60(5): 1215-1222.
- [20] Park S, Abdi T, Gentry M, *et al.* Histological disease activity as a predictor of clinical relapse among patients with ulcerative colitis: systematic review and Meta-analysis [J]. *Am J Gastroenterol*, 2016, 111(12): 1692-1701.