

• 论 著 •

高脂饮食影响小鼠肠道免疫功能的转录组分析

周文汀,周一征,王 舜,邱 熠,何如怡,田 宇[△],刘志国[△]

(武汉轻工大学生命科学与技术学院,湖北 武汉 430023)

[摘 要] **目的** 研究高脂饲养对小鼠肠道免疫功能及相关基因表达的影响,并探讨高脂饮食导致肠道炎症和影响肠道屏障功能的潜在机制。**方法** 2019 年 6 月,将 24 只 C57BL/6J 雄性小鼠分为正常饮食组(CON 组)和高脂饮食组(HFD 组),每组 12 只,采用随机分组法分为 4 笼,每笼 3 只,分别饲养 18 周。采用酶联免疫吸附试验试剂盒检测血糖、血脂等生化指标。采用 Trizol 试剂法提取小鼠盲肠组织总 RNA,逆转录获得 cDNA 并建库进行 RNA 转录组测序,利用基因本体、京都基因与基因组百科全书数据库对差异表达基因进行功能分析和通路富集分析。**结果** HFD 组小鼠第 18 周体重 $[(36.96 \pm 1.31) \text{g}]$,以及空腹血糖(GLU) $[(6.65 \pm 0.41) \text{mmol/L}]$ 、低密度脂蛋白胆固醇 $[(0.97 \pm 0.07) \text{mmol/L}]$ 、总胆固醇 $[(4.08 \pm 0.15) \text{mmol/L}]$ 、甘油三酯 $[(0.64 \pm 0.03) \text{mmol/L}]$ 水平均明显高于 CON 组[分别为 $(31.81 \pm 0.53) \text{g}$, (4.53 ± 0.33) 、 (0.60 ± 0.04) 、 (2.79 ± 0.13) 、 $(0.51 \pm 0.02) \text{mmol/L}$],差异均有统计学意义($t = 3.66, 4.00, 4.46, 6.34, 3.52, P = 0.0014, 0.0006, 0.0002, < 0.0001, 0.0020$)。盲肠组织差异表达基因主要富集到免疫和细胞死亡等多个生物学过程,其中 *cxcr4*, *ccr7*, *cxcl12*, *ccl28*, *cxcl13*, *ccl21a* 等主要炎症因子明显上调,高脂饮食明显降低了肠道屏障功能重要基因 *cnd14* 的表达,可能导致屏障功能受损。**结论** 高脂饮食可明显影响肠道免疫功能,并可能诱导肠道屏障功能受损,是肠道炎症及炎性相关疾病的潜在致病因素。

[关键词] 高脂饮食; 小鼠; 肠道; 免疫功能; 转录组

DOI:10.3969/j.issn.1009-5519.2024.23.003

中图法分类号:Q786;R155.1

文章编号:1009-5519(2024)23-3973-06

文献标识码:A

Transcriptome analysis of high-fat diet affecting intestinal immune function in mice

ZHOU Wenting, ZHOU Yizheng, WANG Shun, QIU Yi, HE Ruyi, TIAN Yu[△], LIU Zhiguo[△]

(College of Life Science and Technology, Wuhan Polytechnic University, Wuhan, Hubei 430023, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the effects of high-fat feeding on intestinal immune function and related gene expression in mice, and to explore the potential mechanisms by which a high-fat diet leads to intestinal inflammation and affects intestinal barrier function. **Methods** In June 2019, A total of 24 C57BL/6J male mice were divided into a normal diet group (CON group) and a high-fat diet group (HFD group), with 12 mice in each group, using the random grouping method, divided into 4 cages with 3 mice in each cage, and fed for 18 weeks respectively. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kits were used to detect biochemical indexes such as blood glucose and blood lipids. Total RNA of mouse cecum tissue was extracted by Trizol reagent method, cDNA was obtained by reverse transcription and libraries were constructed for RNA transcriptome sequencing, and differentially expressed genes were subjected to functional analysis and pathway enrichment analysis by using Gene Ontology, Kyoto Genome and Genome Encyclopedia databases. **Results** The body weight $[(36.96 \pm 1.31) \text{g}]$, and GLU $[(6.65 \pm 0.41) \text{mmol/L}]$, LDL cholesterol $[(0.97 \pm 0.07) \text{mmol/L}]$, total cholesterol $[(4.08 \pm 0.15) \text{mmol/L}]$, and triacylglycerol $[(0.64 \pm 0.03) \text{mmol/L}]$ of the mice in the HFD group at week 18 levels were significantly higher than those in the CON group $[(31.81 \pm 0.53) \text{g}, (4.53 \pm 0.33), (0.60 \pm 0.04), (2.79 \pm 0.13), \text{and } (0.51 \pm 0.02) \text{mmol/L, respectively}]$, and the differences were statistically significant ($t = 3.66, 4.00, 4.46, 6.34, 3.52, P = 0.0014, 0.0006, 0.0002, < 0.0001, 0.0020$). The differentially expressed genes in cecum tissues were mainly enriched to several biological processes such as immunity and cell death, in which the major inflammatory factors such as *cxcr4*, *ccr7*, *cxcl12*, *ccl28*, *cxcl13*, and *ccl21a* were significantly up-regulated, and the high-fat diet markedly reduced the important genes for the intestinal barrier function, the *cnd14* expression, which may lead to impaired barrier function. **Conclusion** A high-fat diet can significantly affect intestinal immune function and may induce impaired

作者简介:周文汀(1998—),硕士研究生在读,主要从事生物化学与分子生物学的研究。 [△] 通信作者, E-mail: tianyupost@163.com; zhiguo_1

@126.com。

intestinal barrier function, which is a potential causative factor for intestinal inflammation and inflammation-related diseases.

[Key words] High-fat diet; Mice; Intestine; Immunity; Transcriptome

近年来,随着健康意识的提高,人们越来越重视生活方式和饮食习惯。饮食行为已被认为是慢性疾病发展中最有影响的因素之一^[1]。同时,以西方饮食方式为主的高脂饮食模式日渐普遍^[2],其健康危害也越来越受到关注^[3]。目前,高脂饮食导致的代谢性疾病已成为人类健康的重大威胁,而肠道作为人体的重要组成部分,参与了食物消化及能量代谢过程,其功能受到高脂饮食模式的损害更为严重。据文献报道,高脂饮食引起的肥胖会导致机体肠道屏障功能降低、肠道炎症等多种疾病,已成为研究热点^[4]。

肠道是人体主要的消化器官,也是人体最大的免疫屏障。肠道不仅负责吸收营养,还负责保护宿主免受各种毒素和微生物侵害^[5]。盲肠作为肠道的一部分,一直被认为是一个退化的、在进化过程中失去功能的器官。但近年来,有学者指出,盲肠与许多免疫功能有关,同时,在炎症性肠病的发展中具有预防作用^[6]。目前,越来越多的证据表明,摄入过量的脂肪会在不同程度上增加肠道通透性^[7]。如高脂饮食的摄入会调节紧密连接细胞的结构和分布,甚至还会诱导肠上皮细胞发生氧化应激反应和细胞凋亡。此外,高脂肪饮食还会通过刺激促炎信号级联反应直接增强肠道通透性,通过增加屏障破坏性细胞因子肿瘤坏死因子 α 、白细胞介素(IL)-1 β 、IL-6、 γ 干扰素等,以及减少屏障形成细胞因子 IL-10、IL-17、IL-22 等间接增加肠道通透性,损坏屏障功能,从而导致许多肠道疾病的发生,如炎症性肠炎、坏死性小肠、结肠炎等^[8-10]。但从转录组水平研究高脂所致肠道免疫功能损害及相关基因表达规律的文献报道尚不多见,尤其是对炎症性相关的盲肠组织的研究相对缺乏。本研究以高脂饮食的小鼠盲肠为重要实验材料,采用高通量测序方法,对盲肠肠道样本进行转录组学测序,同时,进行相关的生物信息学分析,全面系统地分析了高脂饮食前后盲肠表达谱的变化,旨在为探究盲肠免疫功能和屏障功能受高脂饮食影响的作用机制及相关领域肠道炎症疾病的防治提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物模型 2019 年 6 月选取无特定病原菌 C57BL/6J 雄性小鼠[8~10 周龄,体重(28±4)g] 24 只,购自湖北省疾病预防控制中心湖北省实验动物研究中心[许可证号:SCXK(鄂)2015-0018]。饲料种类分别为标准饲料和高脂饲料。标准饲料:TP23102,10%脂肪,14%蛋白质,76%碳水化合物;高脂饲料(参照 Hayek 西方膳食模型):45%脂肪,14%蛋白质,76%碳水化合物。2 种动物饲料均购自南通特洛菲饲料科技有限公司。实验期间动物房内温度为(23±2)℃,

相对湿度为(55±10)%,12 h 明暗交替循环,适应 1 周,自由饮水,实验进行 18 周。根据饲料种类分为正常饮食组(CON 组)和高脂饮食组(HFD 组),每组 12 只,采用随机分组法分为 4 笼,每笼 3 只。所有动物饲养和实验均按《实验动物关爱和使用指南》进行,并经武汉轻工大学实验动物伦理委员会批准(BME-2022-2-02)。

1.1.2 试剂 Trizol、逆转录试剂盒均购自 Takara (日本),总胆固醇(TC)试剂盒、甘油三酯(TG)试剂盒、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)试剂盒均购自南京建成生物科技有限公司,无水乙醇(分析纯)、异丙醇(分析纯)、氯化钠(分析纯)均购自国药集团化学试剂有限公司,超纯水、多聚甲醛固定液均购自武汉塞维尔生物科技有限公司。

1.1.3 设备 D-37520 台式高速离心机(Centrifuge, 德国)、OptiClean900 超净工作台(力康,瑞士)、IMS-70 制冰机(雪科,中国)、3-18KHT 台式高速冷冻离心机(Sigma, 德国)、Leica-CM1900 冷冻型组织研磨器(宁波新芝生物科技有限公司)、伯乐 T100 普通聚合酶链反应(PCR)仪(Bio-rad,美国)等。

1.2 方法

1.2.1 建模及样本采集 参照实验动物模型建立方法建模,CON 组给予正常饲料,HFD 组给予高脂饲料。打耳标编号,喂养 18 周。小鼠建模 18 周后取样,取样前禁食、不禁饮 12 h。采用眼眶静脉丛取血法,将全血收集到含有肝素钠的 1.5 mL EP 管中,4℃,3 000 r/min 离心 15 min,取上清液,分别取 50、100、150 μ L 血浆进行分装和标记。用二氧化碳麻醉后采用颈椎脱臼法处死小鼠,解剖各组小鼠,快速收集大肠(盲肠)组织,在预冷的生理盐水中处理后进行液氮速冻法处理,保存于-80℃超低温冰箱待用。

1.2.2 总 RNA 提取 分别取 2 组小鼠肠道组织,将加了 RNATrizol 试剂的组织放入预冷好的组织研磨机中研磨后取混合液于 EP 管中。加氯仿使 RNA 与 DNA、蛋白质分离。再通过异丙醇沉淀浓缩,加入超纯水溶解即可获得完整的 RNA。最后通过微量分光光度计检测 RNA 浓度和纯度。

1.2.3 小鼠血生化指标测定 实验结束前采血,应用血糖仪测量小鼠空腹血糖(GLU)并记录。血浆取出后按血生化试剂盒说明书检测 TC、TG、LDL-C 水平,采用酶标仪检测。

1.2.4 测序及原始数据质控 每个样品构建一个文库,库检合格后通过 DNBSEQ 测序平台进行测序。数据分析前过滤原始数据,去除质量低、接头污染,以及未知碱基 N 含量过高的 reads,获得后续分析使用的 clean reads^[10-11]。得到 clean data 后用 HISAT 将

clean reads 比对到参考基因组序列。RNA 测序由华大基因进行。

1.2.5 差异表达基因 (DEGs) 筛选 利用 R 软件中的“limma”包对转录组数据进行差异表达分析^[12]。筛选条件: $P < 0.05$, 且表达差异倍数 $|\log_2 \text{Fold Change}| > 1$ 。随后利用 R 软件中的“ggplot2”包绘制火山图, 体现饮食差异下 DEGs 数量及表达情况, 并用柱状图绘制上调与下调的基因。

1.2.6 DEGs 的京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 和基因本体 (GO) 富集分析 将差异筛选后的相关基因进行 KEGG、GO 富集分析, 进一步探索这些基因的功能及相关通路。在 R 软件中利用“pheatmap”包、“enrichplot”进行富集分析 (包括生物过程、细胞组分、分子功能), 并绘制富集分析的气泡图。同时, 根据所绘制的气泡图分析说明高脂饮食后相关基因的富集分析结果。

1.3 统计学处理 测序数据经测序公司上传至华大基因平台, 首先进行原始数据处理与质控, 其次采用 R 语言进行统计学分析^[12]。应用 limma R 包进行分析。limma 基于线性模型, 使用加权最小二乘法估计基因表达的差异, 并通过贝叶斯方法校正多重检验问题。分析最后获得各基因的差异倍数变化和显著性 P 值, 用于后续的 DEGs 筛选。应用 SPSS26.0 统计软件进行数据分析, 符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 不符合正态分布的计量资料以中位数表示, 采用独立样本 t 检验、Greenhouse-Geisser 方法、方差分析、Mann-Whitney 检验、秩和检验等。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 2 组小鼠生化指标比较 除第 7 周外, 2 组小鼠前 8 周体重基本相同, 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$); HFD 组小鼠第 9 周后体重增长均较 CON 组更快, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。与 CON 组比较, HFD 组小鼠第 18 周体重, 以及 GLU、TC、TG、LDL-C 水平均明显增加, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

2.2 2 组小鼠 DEGs 比较 与 CON 组比较, HFD 组小鼠 DEGs 数量 (96 个) 更多, 其中上调表达基因 44 个, 下调表达基因 52 个。2 组小鼠 DEGs 的火山图见图 1。

2.3 DEGs 的 GO 和 KEGG 富集分析 DEGs 主要富集在黏膜的固有免疫反应、抗菌体液反应等生物过程。与氧化还原酶活性、铁离子结合、趋化因子活化等分子功能有关。DEGs 主要富集在细胞与细胞因子受体相互作用、核因子 κB (NF- κB)、病毒蛋白与细胞因子和细胞因子受体相互作用、免疫球蛋白 A (IgA) 介导的免疫网络互作、B 淋巴细胞、PPAR 等免疫相关通路。说明高脂饮食可能诱发肠道免疫相关通路的激活。见图 2。筛选出 6 个免疫相关基因, 其表达量见图 3A。高脂饮食导致 cxcr4、ccr7、cxcl12、ccl28、

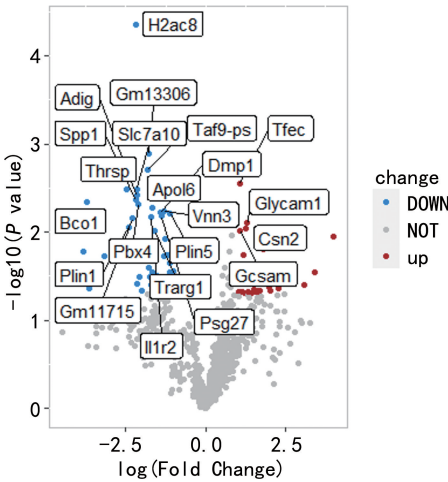
cxcl13、ccl21a 等明显上调为 DEGs。肠道屏障功能调节基因见图 3B。在高脂饮食饲喂下与调节肠道相关的基因 cldn4 明显上调为 DEGs。见表 3、4。

表 1 2 组小鼠不同周数体重比较 ($\bar{x} \pm s$)

周数	CON 组 (n=12)	HFD 组 (n=12)	t	P
1	25.13±1.50	23.88±1.56	2.02	0.055 5
2	25.16±1.28	27.12±1.95	2.91	0.080 0
3	26.23±1.12	26.46±1.69	0.40	0.694 0
4	27.10±1.46	27.32±1.58	0.35	0.730 3
5	27.50±1.75	28.18±2.08	0.86	0.400 0
6	27.28±1.84	27.75±2.77	0.49	0.631 9
7	27.83±1.21	29.98±3.27	2.14	0.043 9
8	28.73±1.95	30.54±3.02	1.74	0.095 1
9	29.28±1.62	32.30±2.81	3.23	0.003 9
10	29.62±1.66	33.71±3.61	3.56	0.001 7
11	29.68±1.60	33.08±2.19	4.34	0.000 3
12	30.41±2.68	33.41±2.45	2.86	0.009 1
13	29.87±1.14	33.68±1.75	6.30	<0.000 1
14	31.35±1.81	34.30±2.98	2.93	0.007 7
15	31.36±2.06	36.42±3.75	4.09	0.000 5
16	31.74±2.22	35.22±3.73	2.77	0.011 1
17	32.11±2.16	36.93±3.35	4.20	0.000 4
18	31.81±0.53	36.96±1.31	3.66	0.001 4
主体间效应	F=17.82		P=0.000 4	
主体内效应	F=62.23		P=0.001 4	
主体间与主体内效应	F=5.36		P<0.000 1	

表 2 2 组小鼠第 18 周体重及生化指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

项目	CON 组 (n=12)	HFD 组 (n=12)	t	P
体重(g)	31.81±0.53	36.96±1.31	3.66	0.001 4
GLU(mmol/L)	4.53±0.33	6.65±0.41	4.00	0.000 6
LDL-C(mmol/L)	0.60±0.04	0.97±0.07	4.46	0.000 2
TC(mmol/L)	2.79±0.13	4.08±0.15	6.34	<0.000 1
TG(mmol/L)	0.51±0.02	0.64±0.03	3.52	0.002 0



注: 红色表示上调基因, 蓝色表示下调基因, 灰色表示不表达基因。

图 1 2 组小鼠 DEGs 的火山图

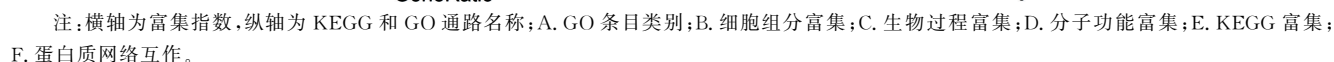
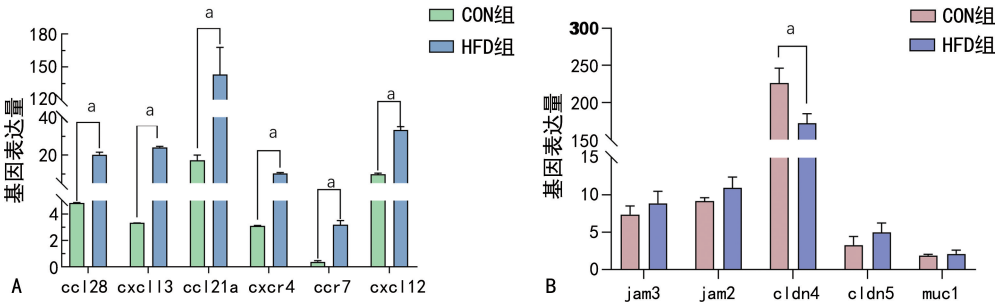


图 2 DEGs 的 GO、KEGG 富集分析



注:A. 免疫相关基因;B. 肠道屏障功能基因;与 CON 组比较,**P*<0.05。

图 3 2 组小鼠免疫相关基因、肠道屏障功能基因表达量比较

表 3 2 组小鼠免疫相关基因表达量比较(<i>M</i>)				
肠道炎症基因	CON 组 (<i>n</i> =3)	HFD 组 (<i>n</i> =3)	<i>Z</i>	<i>P</i>
ccl28	4. 83	20. 21	−1. 96	0. 050
cxcl13	3. 33	23. 59	−2. 02	0. 043
ccl21a	14. 37	161. 40	−1. 99	0. 046
cxcr4	3. 13	9. 84	−2. 02	0. 043
ccr7	0. 30	3. 40	−1. 99	0. 046
cxcl12	10. 37	31. 37	−2. 02	0. 043

表 4 2 组小鼠肠道屏障基因表达量比较(<i>M</i>)				
肠道屏障基因	CON 组 (<i>n</i> =3)	HFD 组 (<i>n</i> =3)	<i>Z</i>	<i>P</i>
jam3	7. 38	8. 58	−1. 53	0. 130
jam2	9. 17	11. 44	−1. 53	0. 130
cldn4	219. 44	170. 23	−1. 96	0. 050
cldn5	3. 27	4. 41	−1. 53	0. 130
muc1	1. 88	2. 24	−0. 51	0. 510

3 讨 论

随着人们生活水平的改善,饮食结构和生活方式发生了很大变化,高脂饮食日益普遍。然而,长期高脂饮食会导致很多健康问题,如肥胖、2 型糖尿病、脂肪肝、高血压等^[13]。同时,高脂饮食还会诱发肠道疾病,如慢性肠炎、急性肠炎、胃肠道癌症等^[14]。通过探究高脂饮食对盲肠的影响,可见高脂饮食会破坏肠道免疫系统、影响肠道吸收和代谢过程。

肠道是体内最大的淋巴组织。肠道免疫的一个显著特征是其能产生大量非炎症 IgA 抗体,作为抵御微生物的第一道防线。而高脂饮食会诱导肠道 IgA 的产生^[15-16]。LUCK 等^[16]发现,高脂饮食会改变肠道 IgA 免疫细胞,而 IgA 是葡萄糖稳态的关键免疫调节剂。高脂饮食喂养的 IgA 缺陷小鼠会导致葡萄糖代谢功能异常,同时,高脂饮食会导致肠道和脂肪组织炎症,肠道通透性增加。本研究结果显示,在高脂饮食下 DEGs 会在 IgA 介导的免疫网络互作信号通路中富集,与上述研究结果一致。YU 等^[17]发现,细胞 Toll 样受体 4/NF-κB 是一种关键的炎症信号传导

途径,密切参与细胞分化、增殖、凋亡和促炎反应。NF-κB 是细胞 Toll 样受体 4 下游,是解释参与炎症反应的多个基因(如促炎细胞因子)表达的关键。从本研究转录组分析可见,DEGs 富集到了 NF-κB 信号通路,显示高脂饮食可能会导致肠道炎症。与上述研究结果一致。本研究转录组数据中还可观察到肠道屏障的相关基因(jam2、jam3、cldn4、cldn5、muc1)表达量发生变化,cldn4 变化明显。有研究表明,cldn4 缺失会导致磷酸肌醇-3 激酶通路的激活,表现为蛋白激酶 B 磷酸化增加、细胞磷脂酰肌醇(3,4,5)-三磷酸含量和磷酸肌醇-3 激酶活性升高,以及转录因子 mR-NA 和蛋白质水平上调,导致上皮间充质化^[18]。

根据本研究转录组数据可见,与肠道免疫相关的炎症因子 cxcr4、ccr7、cxcl12、ccl28、cxcl13、ccl21a 表达量均有变化。cxcr7 受体与 cxcl12 相互作用,在炎症性肠病中发挥作用。cxcl12 是一种普遍存在的组成型趋化因子,参与了干细胞增殖和迁移,并介导了 T 淋巴细胞向发炎组织迁移。WERNER 等^[19]发现,cxcl12 及其受体 cxcr7 在发炎的肠黏膜中表达。WU 等^[20]发现,肠道炎症中 cxcl2 表达会上调,并且募集巨噬细胞发挥功能,包括迁移到炎症部位和促炎细胞因子 IL-6 的分泌,加速肠道炎症的发生。而高脂饮食会导致 cxcl2、cxcl3 表达上调。趋化因子 ccl28 由几个黏膜部位的上皮细胞组成型表达,属炎症性趋化因子,并被认为具有 T 淋巴细胞和 IgA B 淋巴细胞亚群的稳态化学引诱剂的作用,并介导抗菌活性。与正常盲肠比较,病理性发炎的上皮细胞中 ccl28 显著增加^[21]。而 ccl21a 在调节淋巴内皮细胞诱导的早期趋化性和免疫细胞浸润方面均具有潜在作用,是免疫应答的重要调节因子^[22]。

综上所述,高通量测序和生物信息学分析发现高脂饮食诱导下的 DEGs 主要富集到免疫、脂质合成、细胞死亡、细胞增殖等多个生物学过程及产生 IgA 的肠道免疫网络、PPAR、NF-κB 等信号通路,从基因角度全面分析了高脂饮食对盲肠免疫和屏障方面的影响,表明高脂饮食通过调节炎症因子和屏障基因的表达,损害盲肠屏障功能,诱导盲肠组织发生炎症。

参考文献

[1] SINGH R K,CHANG H W,YAN D,et al. In-

fluence of diet on the gut microbiome and implications for human health[J]. *J Transl Med*, 2017,15(1):73.

[2] BEAM A,CLINGER E,HAO L. Effect of diet and dietary components on the composition of the gut microbiota[J]. *Nutrients*, 2021,13(8): 2795.

[3] CASTRO-BARQUERO S,RUIZ-LEÓN A M, SIERRA-PÉREZ M,et al. Dietary strategies for metabolic syndrome: A comprehensive review [J]. *Nutrients*, 2020,12(10):2983.

[4] ROHR M W,NARASIMHULU C A,RUDES-KI-ROHR T,et al. Negative effects of a high-fat diet on intestinal permeability: A review[J]. *Adv Nutr*, 2020,11(1):77-91.

[5] CÂNDIDO F G, VALENTE F X,GRZEŚ-KOWIAK Ł M,et al. Impact of dietary fat on gut microbiota and low-grade systemic inflammation: Mechanisms and clinical implications on obesity[J]. *Int J Food Sci Nutr*, 2018,69(2):125-143.

[6] SAHAMI S,KOOIJ I A,MEIJER S L,et al. The link between the appendix and ulcerative colitis: Clinical relevance and potential immunological mechanisms[J]. *Am J Gastroenterol*, 2016,111(2):163-169.

[7] CAMILLERI M,MADSEN K,SPILLER R,et al. Intestinal barrier function in health and gastrointestinal disease [J]. *Neurogastroenterol Motil*, 2012,24(6):503-512.

[8] TAKIISHI T,FENERO C I M,CÂMARA N O S. Intestinal barrier and gut microbiota: Shaping our immune responses throughout life[J]. *Tissue Barriers*, 2017,5(4):e1373208.

[9] ALLAIRE J M,CROWLEY S M,LAW H T,et al. The intestinal epithelium: Central coordinator of mucosal immunity[J]. *Trends Immunol*, 2018,39(9):677-696.

[10] JIANG Z H,ZHOU X,LI R,et al. Whole transcriptome analysis with sequencing: Methods, challenges and potential solutions[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2015,72(18):3425-3439.

[11] MORTAZAVI A,WILLIAMS B A,MCCUE K,et al. Mapping and quantifying mammalian transcriptomes by RNA-Seq[J]. *Nat Methods*, 2008,5(7): 621-628.

[12] WITHANAGE M H H,LIANG H,ZENG E. RNA-seq experiment and data analysis [J]. *Methods Mol Biol*, 2022,2418:405-424.

[13] BHUPATHIRAJU S N,HU F B. Epidemiology of obesity and diabetes and their cardiovascular complications [J]. *Circ Res*, 2016, 118 (11):1723-1735.

[14] TONG Y,GAO H R,QI Q C,et al. High fat diet, gut microbiome and gastrointestinal cancer[J]. *Theranostics*, 2021, 11 (12): 5889-5910.

[15] XIONG N,HU S M. Regulation of intestinal IgA responses[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2015, 72 (14):2645-2655.

[16] LUCK H,KHAN S,KIM J H,et al. Gut-associated IgA + immune cells regulate obesity-related insulin resistance [J]. *Nat Commun*, 2019,10(1):3650.

[17] YU C Y,WANG D,YANG Z B,et al. Pharmacological effects of polyphenol phytochemicals on the intestinal inflammation via targeting TLR4/NF-κB signaling pathway[J]. *Int J Mol Sci*, 2022,23(13):6939.

[18] LIN X J,SHANG X Y,MANOREK G,et al. Regulation of the epithelial-mesenchymal transition by claudin-3 and claudin-4 [J]. *PLoS One*, 2013,8(6):e67496.

[19] WERNER L,ELAD H,BRAZOWSKI E,et al. Reciprocal regulation of CXCR4 and CXCR7 in intestinal mucosal homeostasis and inflammatory bowel disease[J]. *J Leukoc Biol*, 2011, 90 (3):583-590.

[20] WU S,YUAN W,LUO W W,et al. miR-126 downregulates CXCL12 expression in intestinal epithelial cells to suppress the recruitment and function of macrophages and tumorigenesis in a murine model of colitis-associated colorectal cancer [J]. *Mol Oncol*, 2022,16(19):3465-3489.

[21] OGAWA H,IIMURA M,ECKMANN L,et al. Regulated production of the chemokine CCL28 in human colon epithelium[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2004,287(5):G1062-G1069.

[22] CAI J J,DENG J C,GU W D,et al. Impact of local alloimmunity and recipient cells in transplant arteriosclerosis [J]. *Circ Res*, 2020, 127 (8):974-993.

(收稿日期:2024-02-18 修回日期:2024-08-22)