基础研究 DOI：10.13406/j.cnki.cyxb.003587

颗粒蛋白前体在新生儿坏死性小肠结肠炎动物实验模型中的保护作用探究

邱友军，邓　春
（重庆医科大学附属永川医院新生儿科，重庆　402160）

【摘　要】**目的**：探讨颗粒蛋白前体（progranulin，PGRN）在新生儿坏死性小肠结肠炎（neonatal necrotizing enterocolitis，NEC）新生小鼠的保护作用机制。**方法**：将60只10日龄的野生型（wild type，WT）C57小鼠分为WT+Control组和WT+NEC组；将60只10日龄C57B/L背景的PGRN基因敲除鼠（$PGRN^{-/-}$）分为$PGRN^{-/-}$+Control组和$PGRN^{-/-}$+NEC组。QPCR和ELISA检测小鼠肠道PGRN mRNA和蛋白水平变化；记录小鼠体质量改变，HE染色检测小鼠肠组织损伤情况并进行病理损伤评分；ELISA检测小鼠肠道炎症相关因子[肿瘤坏死因子α（tumor necrosis factor alpha，TNF-α）、转录生长因子β1（transforming growth factor-β，TGF-β1）、CC趋化因子配体2（C-C motif chemokine ligand 2，CCL2）]的水平改变；免疫荧光染色和流式细胞术检测小鼠肠道的巨噬细胞浸润改变。**结果**：WT+NEC组小鼠肠组织中PGRN的mRNA和蛋白表达量较WT+Control组小鼠明显提高（$P<0.05$）。与WT+Control组相比，WT+NEC组小鼠肠组织病理损伤评分升高，$PGRN^{-/-}$+NEC组小鼠肠道病理损伤评分较WT+NEC组更高（$P<0.05$）。相比较WT+Control组，WT+NEC组小鼠肠组织促炎因子CCL2，TNF-α水平升高，抗炎因子TGF-β1水平降低；$PGRN^{-/-}$+NEC组小鼠肠组织较WT+NEC组有更高的CCL2，TNF-α水平，更低的TGF-β1水平（$P<0.05$）。与WT+Control组相比，WT+NEC组小鼠肠黏膜固有层浸润的巨噬细胞数量增加，$PGRN^{-/-}$+NEC组小鼠肠组织中浸润的巨噬细胞数量较WT+NEC组更多（$P<0.05$）。**结论**：PGRN在NEC小鼠肠组织中高表达，PGRN基因敲除加重了小鼠NEC肠道损伤，其作用可能与PGRN缺失促进肠道巨噬细胞浸润，加剧炎症反应相关。

【关键词】坏死性小肠结肠炎；颗粒蛋白前体；巨噬细胞
【中图分类号】R722.6；R392.1　　【文献标志码】A　　【收稿日期】2023-12-27

Protective effects of progranulin in animal model of neonatal necrotizing enterocolitis

Qiu Youjun，*Deng Chun*
（*Department of Neonatology*，*The Affiliated YongChuan Hospital of Chongqing Medical University*）

【**Abstract**】***Objective***：To investigate the protective role of progranulin（PGRN）in necrotizing enterocolitis（NEC）in neonatal mice. ***Methods***：Sixty 10-day-old wild-type C57 mice were divided into WT+Control group and WT+NEC group. Sixty 10-day-old PGRN-deficient（$PGRN^{-/-}$）C57B/L mice were divided into $PGRN^{-/-}$+Control group and $PGRN^{-/-}$+NEC group. We measured PGRN mRNA and protein levels in the mouse intestine using quantitative PCR and enzyme-linked immunosorbent assay（ELISA）；recorded changes in the body weight of the mice；observed and scored the histological damage of the intestinal tissue with HE staining；measured the levels of inflammatory factors（C-C motif chemokine ligand 2[CCL2]，tumor necrosis factor-alpha[TNF-α]，and transforming growth factor-beta 1[TGF-β1]）in the mouse intestine；and assessed macrophage infiltration in the mouse intestine by immunofluorescence staining and flow cytometry. ***Results***：The mRNA and protein expression levels of PGRN in the WT+NEC group were significantly higher than those in the WT+Control group（$P<0.05$）. Compared with the WT+Control group，the pathology score of the intestinal tissue was significantly higher in the WT+NEC group；and the $PGRN^{-/-}$+NEC group mice had a higher pathology score than the WT+NEC group（$P<0.05$）. Compared with the WT+Control group，the WT+NEC group showed significantly higher levels of pro-inflammatory CCL2 and TNF-α and a significantly lower level of anti-inflammatory TGF-β1；and compared with the WT+NEC group，the $PGRN^{-/-}$+NEC group showed significantly higher CCL2 and TNF-α levels and a signifi-

作者介绍：邱友军，Email：docqiu@foxmail.com，研究方向：儿科学、新生儿科学。
通信作者：邓　春，Email：dengcgcb@163.com。
基金项目：重庆医科大学附属永川医院研究生创新基金资助项目（编号：YJSCX202101）。
优先出版：https://link.cnki.net/urlid/50.1046.R.20240926.1020.018（2024-09-27）

cantly lower TGF-β1 level（P<0.05）. Compared with the WT+Control group, the WT+NEC group had a significantly larger number of macrophages infiltrating in the lamina propria of the intestinal mucosa; and the PGRN$^{-/-}$+NEC group had significantly more infiltrating macrophages than the WT+NEC group（P<0.05）. ***Conclusion***: PGRN is highly expressed in the intestinal tissue of NEC mice, and PGRN knockout exacerbates intestinal damage in NEC mice. PGRN deficiency may increase macrophage infiltration and inflammatory response.

【Key words】necrotizing enterocolitis; progranulin; macrophage

新生儿坏死性小肠结肠炎（necrotizing enterocolitis, NEC）是好发于早产儿的消化系统危急重症。虽然近年围产期医学不断进步，但是NEC的总体发病率仍呈上升趋势，死亡率居高不下（15%~30%）[1-2]。NEC的临床治疗以禁食，广谱抗生素治疗为主，病情严重的患儿往往需要手术切除坏死肠段[2-3]。目前仍不清楚NEC的确切发病机制。研究表明早产儿的肠道屏障功能和免疫系统均不成熟，容易发生菌群移位，造成过度的肠道炎症反应[3]。组织病理学研究指出NEC患者肠道黏膜固有层中有丰富的巨噬细胞浸润，伴随着大量炎症因子[如肿瘤坏死因子α（tumor necrosis factor alpha, TNF-α），白细胞介素1β（interleukin-1β, IL-1β）等]的产生。耗竭肠道中的巨噬细胞可以改善实验性NEC中肠组织损伤程度[4-5]。提示了巨噬细胞在NEC肠组织炎症损伤中的重要地位的。

颗粒蛋白前体（progranulin, PGRN）是一种生长因子样分泌性蛋白，其在肠，脑，肺等多种组织器官中有丰富的表达，参与了包括炎症反应，免疫细胞分化在内的众多病理生理过程[6]。近期研究显示PGRN与巨噬细胞浸润相关的炎症反应具有密切关联性。急性中耳炎动物研究表明，PGRN缺陷促进了CC趋化因子配体2（C-C motif chemokine ligand 2, CCL2）的表达，增加了炎症中浸润的巨噬细胞数量，加剧了炎症反应和组织损伤；重组PGRN干预可以有效减少炎症部位巨噬细胞的浸润[7]。然而，目前暂不清楚PGRN在NEC中的具体作用。

推测PGRN可以抑制NEC肠组织中巨噬细胞浸润，减少肠组织中促炎因子的产生，在NEC中发挥了保护性作用。本研究引入PGRN$^{-/-}$小鼠，建立了NEC小鼠模型，检测PGRN在NEC肠组织的表达变化及对肠组织炎症，巨噬细胞募集的影响，旨在探讨PGRN在NEC动物模型中的作用机制。

1 材料与方法

1.1 主要试剂和仪器

犬代乳奶粉（Pet-Ag, 美国）；Similac配方奶（Abbott Laboratories, 美国）；RIPA组织裂解液（索莱宝，北京），Trizol（Invitrogen, 英国），Evo M-MLV逆转录预混试剂盒（艾科瑞生物，湖南）SYBR Green Pro Taq HS预混型qPCR试剂盒Ⅱ（11702）（艾科瑞生物，湖南）。CCL2 Elisa试剂盒，TNF-α Elisa试剂盒，TGF-β1 Elisa试剂盒（四正柏，苏州），PGRN Elisa试剂盒（瑞博奥，广州），F4/80多克隆抗体（Servicebio，武汉），CD11b-FITC，F4/80-PE流式荧光耦联抗体（BioLegend，北京）。

1.2 动物实验分组和NEC模型

取10日龄C57B/L背景的野生型（Wild Type, WT）新生小鼠（雌雄比1∶1，体质量3.5~4.5 g），随机数法分为野生型对照组（WT+Control, n=30）和野生型建模组（WT+NEC, n=30）；取10日龄C57B/L背景的PGRN基因敲除（PGRN$^{-/-}$）新生小鼠（雌雄比1∶1，体质量3.5~4.5 g），随机数法分为PGRN基因敲除对照组（PGRN$^{-/-}$+Control, n=30）和PGRN基因敲除建模组（PGRN$^{-/-}$+NEC, n=30）。对照组小鼠全程保持母乳喂养，于14 d清晨处死，取远端小肠组织（30~50 mg）用于后续实验。建模组小鼠在第10天接受NEC应激处理，将10日龄小鼠置于恒温箱中，使用Similac婴儿配方奶粉和幼犬代乳奶粉配制配方奶，每隔4 h对小鼠进行配方奶（0.04 mL/g）灌胃处理。于每日8:00、14:00、20:00对建模组小鼠缺氧处理90 s（5% O_2, 95% N_2）和冷刺激（4 ℃）处理10 min，持续3 d。建模完成后，次日清晨将小鼠处死，收集远端小肠组织（30~50 mg）用于后续实验。本研究动物实验方案经重庆医科大学动物伦理委员会批准。实验过程严格遵守伦理委员会实验动物管理规范。本研究所用实验动物均饲养于重庆医科大学动物中心SPF级动物房。

1.3 方法

1.3.1 小鼠的体质量改变 记录建模过程中4组小鼠体质量变化。

1.3.2 肠组织形态学检测和病理损伤评分 取小鼠远端小肠组织（30~50 mg），进行固定，包埋，切片，染色处理。在100倍镜下观察HE染色切片，每张切片随机采集3张视野图像，由专业病理学家在双盲法下按照肠道病理损伤评分标准进行评分[8]，取3份图像均值作为该切片的最终分值。当切

片评分值≥2，证明NEC被成功诱导。

1.3.3 实时荧光定量PCR检测 每50 mg肠组织放入1 mL管EP管，利用Trizol法提取肠组织中的RNA。测定提取的RNA浓度，并将不同样本的RNA浓度均一化至500 ng/uL。利用逆转录试剂盒将RNA逆转录为cDNA。以cDNA为模板，*β-actin*为内参基因，利用SYBR试剂盒对目的基因进行实时荧光定量QPCR扩增（Bio-Rad CFX90 QPCR仪）。引物序列见表1。

表1 实时荧光PCR引物序列

基因	序列
PGRN	F-TGCCATCTGCTGTTCCGAC
	R-CACTTCACCTCCTTCACTGGG
β-actin	F-CAGCCTTCCTTCTTGGGTAT
	R-GCTCAGTAACAGTCCGCCTA

1.3.4 免疫荧光染色 对小鼠的肠道蜡块切片进行免疫荧光分析。利用柠檬酸修复切片抗原，浸泡于双氧中25 min，PBS洗涤3次，每次5 min。然后加入BSA孵育30 min。加入兔抗小鼠F4/80多克隆抗体，在湿润培养皿中于4 ℃下孵育过夜，PBS洗涤3次，每次5 min。将切片在室温下用荧光二抗避光孵育1 h，PBS洗涤3次，每次5 min。使用4′，6-二氨基-2-苯基吲哚（DAPI）染色细胞核，PBS洗涤3次，每次5 min。滴加荧光淬灭剂，封片。利用200倍荧光显微镜观察样本，每个样本随机采集3个视野图像，使用Image J软件分析图像平均荧光强度。

1.3.5 ELISA检测炎症相关因子 将小鼠肠道组织（50 mg）与RIPA裂解液1∶10混合，离心10 min（4 ℃，12 000 r/min）收集上清液，根据ELISA试剂盒的说明进行炎症相关因子（TNF-α、TGF-β1、CCL2）以及PGRN的蛋白表达评估。

1.3.6 流式细胞术 本研究参考并改进了文献中报道的小鼠肠道巨噬细胞提取方法[9]。简单来说，取下小鼠的肠道标本后，将其纵向剖开，置于预冷的PBS缓冲液中漂洗并剪成小块。将肠道组织碎片转移到50 mL离心管中，加入包括Hank's平衡液、5%胎牛血清、EDTA和DTT的分离液，并在37 ℃下振荡15 min。之后通过100 μm细胞筛过滤，保留细胞筛上的组织并转移到新的离心管中，加入包含1640培养基、1型胶原酶和DNaseI的消化液，并在37 ℃下振荡25 min。再次通过40 μm细胞筛过滤组织，收集滤液，离心沉淀物。沉淀物中含有巨噬细胞。使用FVD-APC-cy7抗体标记细胞的活性状态，使用CD11b-FITC、F4/80-PE标记巨噬细胞。最后在流式管中用磷酸缓冲液重新悬浮细胞。利用流式细胞仪进行上机检测，使用FlowJo 10.0软件进行分析。

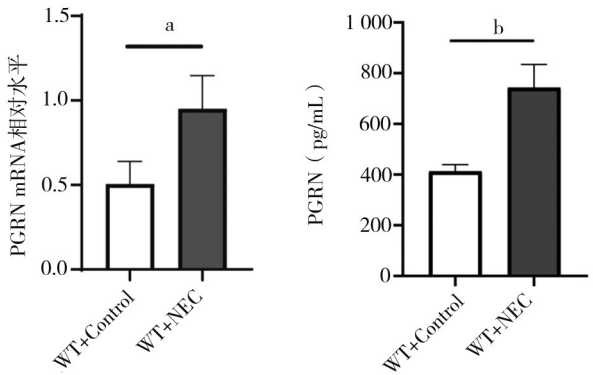
1.4 统计学方法

数据分析使用GraphPad Prism 8.0软件进行。对于符合正态分布且方差齐的计量资料采用均数±标准差（$\bar{x}\pm s$）表示。并利用独立样本*t*检验比较两组之间的差异，采用单因素方差分析进行多组间比较，组间两两比较采用SNK-*q*法。对于不符合正态分布或方差不齐的计量资料，使用中位数（四分位数）[M_d（P_{25}，P_{75}）]表示，并使用Wilcoxon Mann-Whitney检验进行组间比较。检验水准α=0.05。

2 结 果

2.1 PGRN在NEC小鼠肠组织中高表达

QPCR检测小鼠肠道中PGRN的mRNA水平变化；相比较对照组，WT+NEC组小鼠肠组织中PGRN的mRNA表达水平升高，差异有统计学意义（t=4.579，P=0.001，图1A）。ELISA检测表明小鼠肠道中PGRN的蛋白水平变化趋势与mRNA一致，NEC组小鼠肠道匀浆液中的PGRN蛋白水平较对照组升高，差异有统计学意义（t=8.603，P<0.001，图1B）。提示PGRN在NEC小鼠肠道中呈反应性升高。



A. QPCR检测PGRN的mRNA表达水平　B. ELISA检测PGRN的蛋白表达水平

注：a，P<0.001，b，P=0.001，n=6

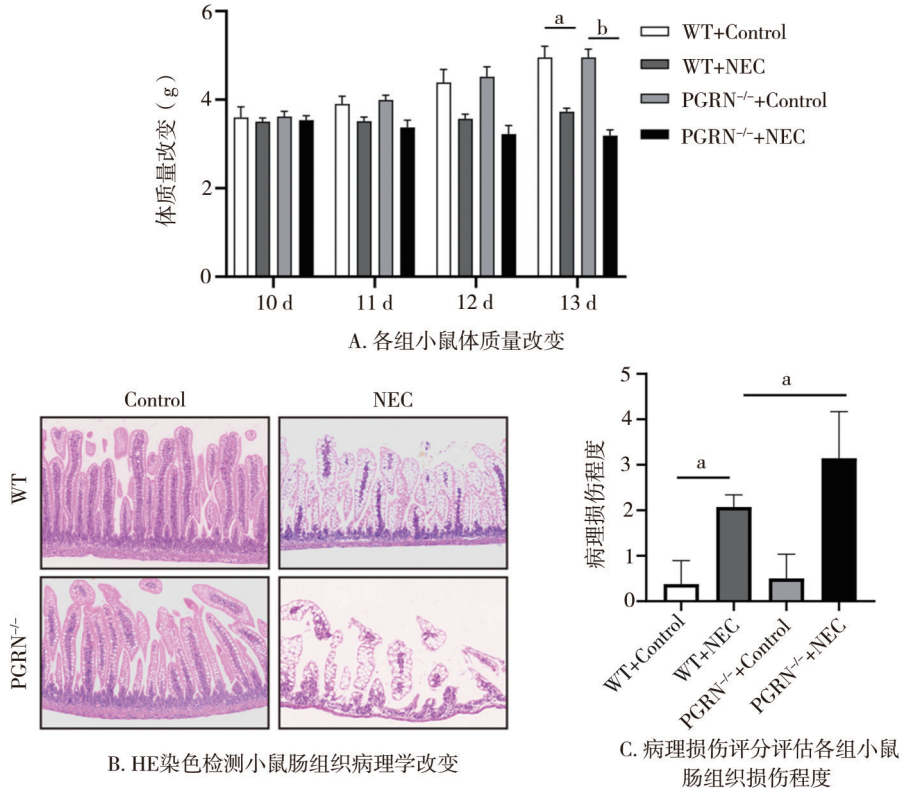
图1 PGRN在NEC小鼠肠组织中高表达

2.2 PGRN缺陷加重小鼠NEC严重程度

WT+Control组和PGRN$^{-/-}$+Control组小鼠全程接受母乳喂养，小鼠活动较多，无腹胀，腹泻症状。PGRN$^{-/-}$+NEC组和WT+NEC组小鼠接受NEC诱导处理；自建模第1天起，小鼠陆续出现腹泻，腹胀，活动下降等改变。相比WT+Control组，WT+NEC组小鼠体质量明显下降（q=7.491，P<0.001），PGRN$^{-/-}$+NEC组小鼠较WT+NEC组体质量下降程度更明显（q=4.020，P=0.0343，图2A）；HE染色检测小鼠肠组织病理改变，WT+Control组和PGRN$^{-/-}$+Control组小鼠肠组织全层结构清楚，肠道绒毛完整，肠道各层连续；WT+NEC小鼠肠组织部分绒毛出现水肿和坏死脱落（图2B），PGRN$^{-/-}$+Control组小鼠肠组织绒毛出现明显坏死脱落，肠道各层分离，连续性中断。肠道病理损伤评分表明，WT小鼠诱导NEC后，病理损伤评分明显升高（q=7.956，P<0.001），PGRN基因敲除进一步提高了NEC小鼠病理损伤评分（q=5.892，P<0.001；图2C）。提示PGRN在NEC中可能发挥保护性作用。

2.3 PGRN缺陷促进小鼠肠道炎症反应

ELISA检测小鼠肠组织炎症相关因子蛋白水平。诱导NEC后WT小鼠肠组织匀浆液中CCL2（q=8.637，P<0.001；图3A），TNF-α（q=9.261，P<0.001，图3B）的水平明显提高，TGF-β1水平明显降低，PGRN基因敲除进一步促进肠组织中TNF-α和CCL2的表达，明显抑制了TGF-β1的表达（q=7.510，P<0.001；图3C）。



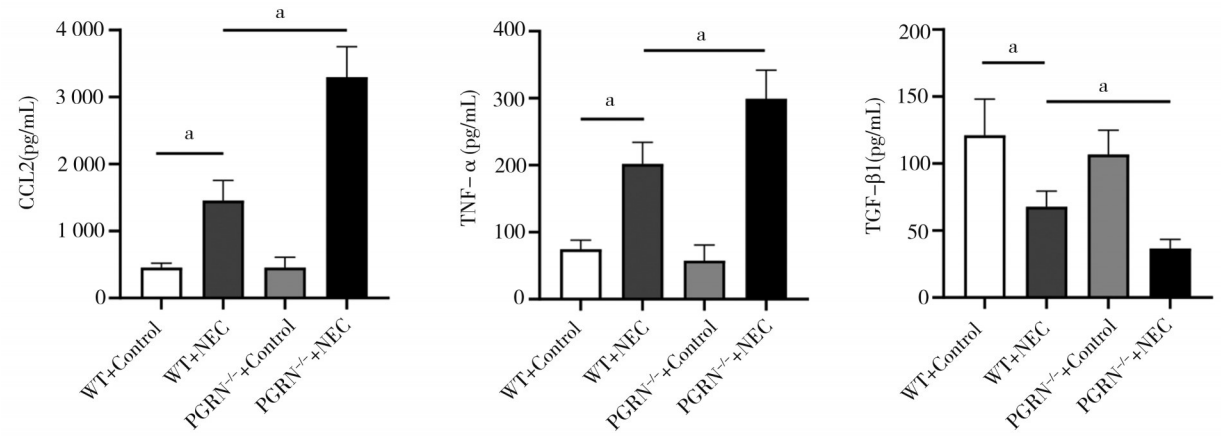
A. 各组小鼠体质量改变

B. HE染色检测小鼠肠组织病理学改变

C. 病理损伤评分评估各组小鼠肠组织损伤程度

注：a，$P<0.005$，b，$P<0.01$，$n=8$

图2　PGRN缺陷加重小鼠NEC损伤情况



A. CCL2水平　　B. TNF-α水平　　C. TGF-β1水平

注：a，$P<0.001$，$n=6$

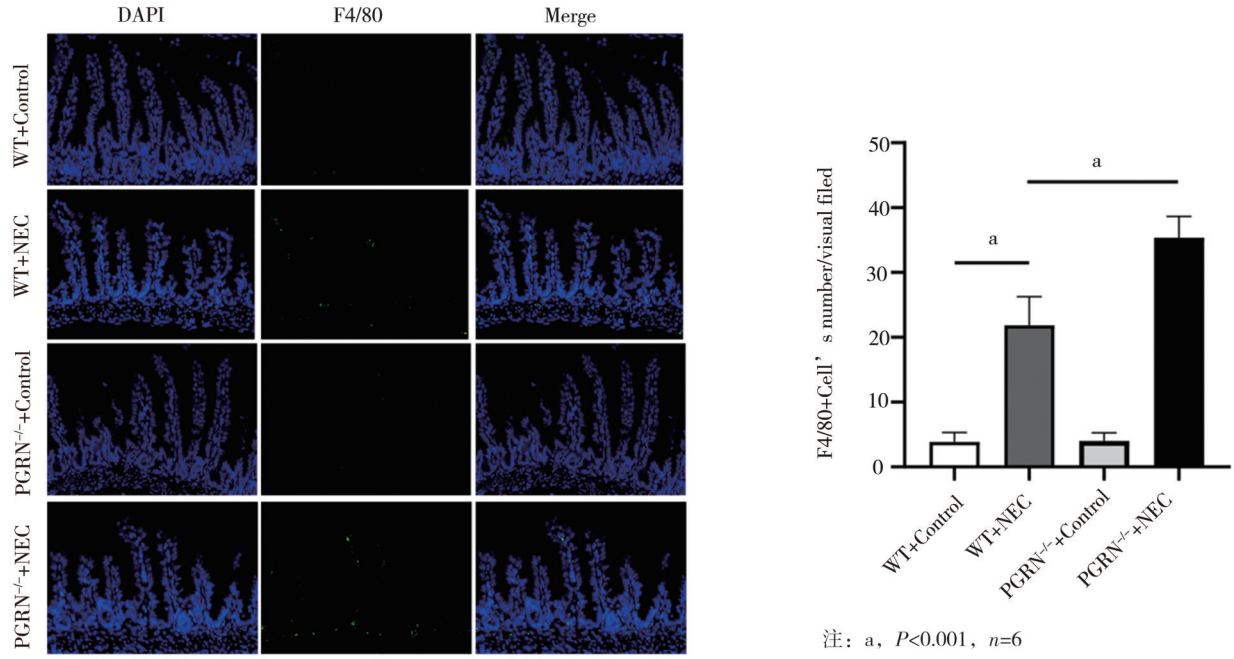
图3　PGRN缺陷促进了NEC小鼠肠道炎症反应

2.4　PGRN缺陷加剧小鼠肠道黏膜固有层巨噬细胞浸润

免疫荧光染色检测巨噬细胞标志物（F4/80），结果显示NEC小鼠肠组织中的巨噬细胞主要表达于肠道黏膜固有层（图4A），WT+NEC组小鼠肠组织中F4/80+巨噬细胞较WT+Control组明显增多（$q=14.99$，$P<0.001$）；相比较WT+NEC组小鼠，PGRN$^{-/-}$+NEC组小鼠肠组织中F4/80+巨噬细胞明显增加（$q=14.85$，$P<0.001$；图4B）。提示PGRN影响了NEC肠道固有层中巨噬细胞的浸润。

2.5　PGRN缺陷增加了肠道浸润巨噬细胞的比例

流式细胞术检测CD11b+，F4/80+的巨噬细胞比例改变。结果表明，与WT+Control组小鼠相比较，WT+NEC组小鼠肠组织中巨噬细胞的比例明显升高（$q=13.13$，$P<0.001$）；PGRN基因敲除进一步增加了NEC小鼠肠组织中巨噬细胞的比例（$q=16.90$，$P<0.001$；图5A、B）。进一步提示PGRN影响了NEC小鼠肠道巨噬细胞浸润的数量改变。

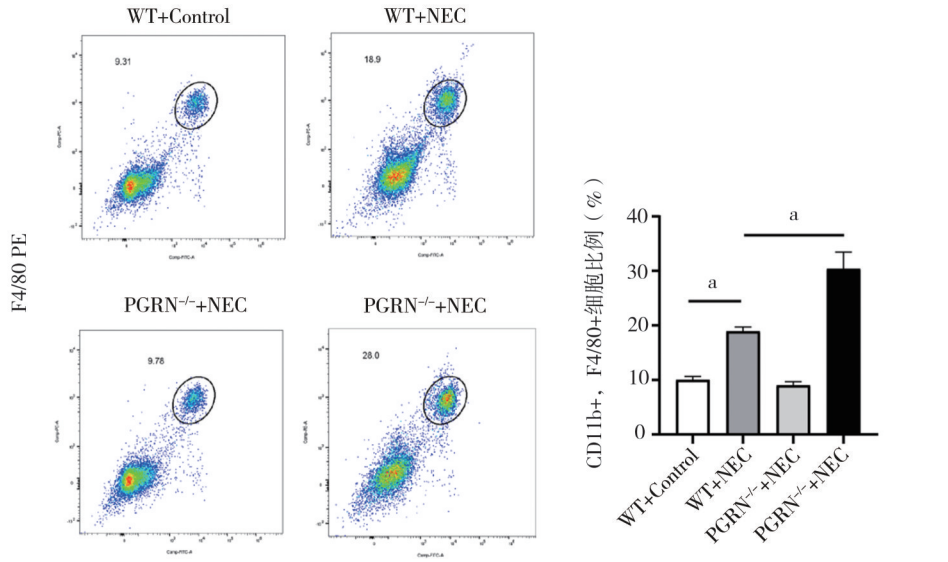


A. 免疫荧光检测各组小鼠肠道黏膜固有层中巨噬细胞浸润情况

注：a，$P<0.001$，$n=6$

B. 各组小鼠肠组织巨噬细胞浸润情况

图4　PGRN缺陷促进NEC小鼠肠道巨噬细胞浸润



A. 流式细胞术检测各组小鼠肠道中CD11b+，F4/80+巨噬细胞比例改变情况

注：a，$P<0.001$，$n=6$

B. 各组小鼠肠道巨噬细胞比例改变情况

图5　PGRN缺陷增加了NEC小鼠肠道浸润巨噬细胞的比例

3　讨　论

本研究发现PGRN水平在NEC小鼠肠道中明显升高，PGRN基因敲除加重了小鼠NEC肠组织损伤。本研究还证实敲除PGRN基因后，NEC小鼠肠道中黏膜固有层浸润的巨噬细胞数量明显增加，促炎因子CCL2，TNF-α水平上升，抗炎因子TGF-β1水平下降。以上结果提示PGRN在实验性NEC中可能发挥了保护性作用。

NEC早期临床表现以腹胀和喂养不耐受为主，症状缺乏特异性，起病较为隐匿[10-12]。NEC的病情可在数天迅速进展，导致肠道黏膜坏死甚至发生肠穿孔[11]。腹部X线平片出现“气腹”征的患者往往需要手术切除坏死肠段[13]。NEC的确切发病机制目前仍尚不明确，研究认为众多危险因素如早产、感染、缺氧等参与了肠道黏膜损伤，进而增加细菌和毒素侵袭肠道组织的风险，导致大量免疫细胞在肠组织中持续浸润，加剧了炎症反应[12]。

巨噬细胞是机体最重要的固有免疫细胞之一，广泛存在于血液以及肠组织在内的多种组织器官。当病原体侵袭肠黏膜时，局部病变部位的巨噬细胞浸润有助于清除致病菌，然而过度的巨噬细胞浸润会导大量炎症因子产生，导致不受控制的炎症反应[14-15]。组织病理学研究表明，NEC肠组织中巨噬细胞浸润数量明显增加，伴随着大量炎症因子的浸润[4,16]。动物研究证明新生小鼠肠道黏膜损伤之后出现具有大量促炎表型的巨噬细胞浸润[17]。本研究利用免疫荧光染色和流式细胞术检测巨噬细胞浸润情况，结果显示诱导NEC损伤后小鼠肠黏膜固有层中浸润的巨噬细胞数量明显增加。提示巨噬细胞浸润在NEC发展中具有重要地位。

趋化因子家族是由免疫系统细胞分泌的一个小分子量蛋白家族，主要负责调节细胞的趋化性运动[18-19]。趋化因子配体2（chemokine ligand 2，CCL2）主要来源于上皮细胞、巨噬细胞等细胞，诱导单核细胞、记忆T淋巴细胞等免疫细胞向损伤和感染部位的迁移和浸润[20]。研究表明CCL2在NEC小鼠肠组织中的表达量明显升高[21]。高水平的CCL2有助于募集单核细胞到肠道黏膜损伤部位[22]。本研究结果亦表明，WT小鼠在诱导NEC后肠组织中CCL2的表达水平较对照组明显升高，PGRN缺失可以进一步促进NEC小鼠肠组织中CCL2的高表达。

PGRN是一种具有多种功能的生长因子样分泌蛋白，在众多种组织器官中有丰富的表达，如肠道、大脑、肺等。PGRN参与了包括炎症损伤，细胞生长在内众多生理病理过程[23]。PGRN的抗炎功能已经得到了广泛验证和探索，近期多项研究揭示了PGRN在感染免疫相关疾病中的潜在治疗价值。在小鼠炎症性关节炎研究中，PGRN干预可以减少TNF-α的产生，减少小鼠关节炎症损伤，从而发挥抗炎作用[24]。在炎症性肠病动物模型中，PGRN可以通过肿瘤坏死因子受体2（Tumor Necrosis Factor Receptor 2，TNFR2）依赖的方式促进IL-10的表达，减少TNF-α的表达，从而发挥抗炎作用，避免肠道炎症损伤[25]。另一方面，在肥胖和胰岛素抵抗性糖尿病状态下，PGRN则发挥了促炎作用[26]。提示PGRN在不同疾病中发挥不同功能，本研究结果显示，PGRN在NEC小鼠肠道中的表达明显升高；PGRN基因敲除之后，NEC小鼠肠道中的促炎因子TNF-α明显升高，抗炎因子TGF-β1水平明显下降。提示PGRN在NEC中具有抗炎功能。PGRN与巨噬细胞募集有密切关系，在急性中耳炎动物研究中，PGRN通过降低CCL2水平，抑制了巨噬细胞在炎症部位募集[7]。在肾脏缺血再灌注损伤小鼠模型中，PGRN缺失可以增加小鼠肾小管间质中巨噬细胞的浸润数量，补充重组PGRN可以减少巨噬细胞的浸润[27]。一项脑出血动物研究也表明，脑室下注射重组PGRN可以减少脑出血引起的巨噬细胞浸润[28]。然而，在皮肤伤口感染的研究中发现了相反的结果，PGRN发挥了趋化作用，促进巨噬细胞在皮肤损伤部位的浸润[29]，进一步提示了PGRN在病理生理过程中的功能具有疾病特异性，探究PGRN在不同疾病中作用具有重要的意义。本研究发现，PGRN基因缺失提高了CCL2的水平，促进了NEC小鼠肠道进一步巨噬细胞浸润，加重了肠道炎症反应和损伤程度。提示PGRN可以减轻巨噬细胞浸润相关的炎症反应。

综上所述，本研究推测PGRN可以减少巨噬细胞在NEC小鼠肠组织中的过度浸润，减轻肠道中的炎症反应。本研究结果表明PGRN基因敲除促进了NEC小鼠肠道CCL2表达水平上升，增加了肠道炎症中巨噬细胞浸润的数量，加重了炎症反应，提示了PGRN在NEC中可能发挥保护性作用。本研究使用了$PGRN^{-/-}$小鼠在基因层次限制PGRN的表达，增加了实验论证的可靠性。同时本研究存在一定的局限性，本研究主要间接验证了PGRN缺失加剧了NEC小鼠肠道中的炎症反应，增加了巨噬细胞浸润，引起该病理生理改变的具体分子机制还有待进一步的实验探究。

参 考 文 献

[1] Knell J，Han SM，Jaksic T，et al. Current status of necrotizing enterocolitis[J]. Curr Probl Surg，2019，56(1)：11-38.

[2] Meister AL, Doheny KK, Travagli RA. Necrotizing enterocolitis: it's not all in the gut[J]. Exp Biol Med, 2020, 245(2): 85-95.

[3] Hackam DJ, Sodhi CP. Bench to bedside—new insights into the pathogenesis of necrotizing enterocolitis[J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2022, 19: 468-479.

[4] MohanKumar K, Kaza N, Jagadeeswaran R, et al. Gut mucosal injury in neonates is marked by macrophage infiltration in contrast to pleomorphic infiltrates in adult: evidence from an animal model[J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2012, 303(1): 93-102.

[5] MohanKumar K, Namachivayam K, Song TJ, et al. A murine neonatal model of necrotizing enterocolitis caused by anemia and red blood cell transfusions[J]. Nat Commun, 2019, 10(1): 3494.

[6] Cui YZ, Hettinghouse A, Liu CJ. Progranulin: a conductor of receptors orchestra, a chaperone of lysosomal enzymes and a therapeutic target for multiple diseases[J]. Cytokine Growth Factor Rev, 2019, 45: 53-64.

[7] Wang ZM, He Q, Zhang XX, et al. Innate anti-microbial and anti-chemotaxis properties of progranulin in an acute otitis media mouse model[J]. Front Immunol, 2018, 9: 2952.

[8] Drucker NA, Jensen AR, Te Winkel JP, et al. Loss of endothelial nitric oxide synthase exacerbates intestinal and lung injury in experimental necrotizing enterocolitis[J]. J Pediatr Surg, 2018, 53(6): 1208-1214.

[9] Björck P. Isolation and characterization of plasmacytoid dendritic cells from Flt3 ligand and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor-treated mice[J]. Blood, 2001, 98(13): 3520-3526.

[10] Matei A, Montalva L, Goodbaum A, et al. Neurodevelopmental impairment in necrotising enterocolitis survivors: systematic review and meta-analysis[J]. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed, 2020, 105(4): 432-439.

[11] Wang KW, Tao GZ, Sylvester KG. Recent advances in prevention and therapies for clinical or experimental necrotizing enterocolitis[J]. Dig Dis Sci, 2019, 64(11): 3078-3085.

[12] Hackam DJ, Sodhi CP, Good M. New insights into necrotizing enterocolitis: from laboratory observation to personalized prevention and treatment[J]. J Pediatr Surg, 2019, 54(3): 398-404.

[13] De Bernardo G, Sordino D, De Chiara C, et al. Management of NEC: surgical treatment and role of traditional X-ray versus ultrasound imaging, experience of a single centre[J]. Curr Pediatr Rev, 2019, 15(2): 125-130.

[14] Locati M, Curtale G, Mantovani A. Diversity, mechanisms, and significance of macrophage plasticity[J]. Annu Rev Pathol, 2020, 15: 123-147.

[15] Iliodromiti Z, Anastasiadis A, Varras M, et al. Monocyte function in the fetus and the preterm neonate: immaturity combined with functional impairment[J]. Mediators Inflamm, 2013, 2013: 753752.

[16] Maheshwari A, Kelly DR, Nicola T, et al. TGF-β2 suppresses macrophage cytokine production and mucosal inflammatory responses in the developing intestine[J]. Gastroenterology, 2011, 140(1): 242-253.

[17] Wei J, Tang DX, Lu CJ, et al. Irf5 deficiency in myeloid cells prevents necrotizing enterocolitis by inhibiting M1 macrophage polarization[J]. Mucosal Immunol, 2019, 12(4): 888-896.

[18] Singh S, Anshita D, Ravichandiran V. MCP-1: function, regulation, and involvement in disease[J]. Int Immunopharmacol, 2021, 101(Pt B): 107598.

[19] Lin JT, Kakkar V, Lu XJ. Impact of MCP-1 in atherosclerosis[J]. Curr Pharm Des, 2014, 20(28): 4580-4588.

[20] Arefieva TI, Kukhtina NB, Antonova OA, et al. MCP-1-stimulated chemotaxis of monocytic and endothelial cells is dependent on activation of different signaling cascades[J]. Cytokine, 2005, 31(6): 439-446.

[21] Young NA, Bruss MS, Gardner M, et al. Oral administration of nano-emulsion curcumin in mice suppresses inflammatory-induced NFκB signaling and macrophage migration[J]. PLoS One, 2014, 9(11): e111559.

[22] Sayed IM, Suarez K, Lim E, et al. Host engulfment pathway controls inflammation in inflammatory bowel disease[J]. FEBS J, 2020, 287(18): 3967-3988.

[23] Abella V, Pino J, Scotece M, et al. Progranulin as a biomarker and potential therapeutic agent[J]. Drug Discov Today, 2017, 22(10): 1557-1564.

[24] Tang W, Lu Y, Tian QY, et al. The growth factor progranulin binds to TNF receptors and is therapeutic against inflammatory arthritis in mice[J]. Science, 2011, 332(6028): 478-484.

[25] Wei FH, Zhang YY, Jian JL, et al. PGRN protects against colitis progression in mice in an IL-10 and TNFR2 dependent manner[J]. Sci Rep, 2014, 4: 7023.

[26] Li HX, Zhang ZM, Feng DX, et al. PGRN exerts inflammatory effects via SIRT1-NF-κB in adipose insulin resistance[J]. J Mol Endocrinol, 2020, 64(3): 181-193.

[27] Zhou M, Tang W, Fu Y, et al. Progranulin protects against renal ischemia/reperfusion injury in mice[J]. Kidney Int, 2015, 87(5): 918-929.

[28] Ma YB, Matsuwaki T, Yamanouchi K, et al. Progranulin protects hippocampal neurogenesis via suppression of neuroinflammatory responses under acute immune stress[J]. Mol Neurobiol, 2017, 54(5): 3717-3728.

[29] Zhu J, Nathan C, Jin WW, et al. Conversion of proepithelin to epithelins: roles of SLPI and elastase in host defense and wound repair[J]. Cell, 2002, 111(6): 867-878.

（责任编辑：曾　玲）