

IL-27对小鼠溃疡性结肠炎的治疗作用及机理探讨

王银君¹, 项立¹, 闫兴超²

¹深圳市龙岗区人民医院消化内科, 广东 深圳

²龙岗区吉祥商贸社区党支部, 广东 深圳

收稿日期: 2023年6月18日; 录用日期: 2023年7月13日; 发布日期: 2023年7月20日

摘要

目的: 探讨IL-27对葡聚糖硫酸钠(Dextran sodium sulfate, DSS)诱导的小鼠溃疡性结肠炎及IL-12家族成员(IL-12, IL-23, IL-27, IL-35)表达水平的影响。方法: 用DSS自由饮用法复制Balb/c小鼠溃疡性结肠炎模型。实验设对照(NC)组、模型(UC)组、IL-27高剂量(H)组、低剂量(L)组。造模后, UC组, H组和L组分别予生理盐水、IL-27 1 μg/20g/天和0.2 μg/20g/天皮下注射治疗4 d, 观察一般情况并收集血清和结肠组织标本。用ELISA法检测小鼠血清IL-12、IL-23、IL-27、IL-35的水平, 用RT-PCR法检测小鼠结肠组织中IL-27P28、IL-27EBI3、IL-12P19、IL-23P35的相对含量。结果: DAI评分、MPO水平明显增高($P < 0.05$); 与UC组相比, H组、L组明显降低($P < 0.05$); 小鼠体重、结肠长度、重量及脾脏重量明显降低($P < 0.05$), 与UC组比较, H组和L组增高($P < 0.05$)。ELISA结果: IL-12、IL-23水平增高($P < 0.05$); 与UC组比较H组、L组明显降低($P < 0.05$); 与NC组比较, IL-27的表达在UC组稍有增高, H组, L组明显增高($P < 0.05$); 与UC组比较, H组, L组明显增高($P < 0.05$); 与NC组比较, IL-35的表达在UC组明显降低, H组, L组有所降低升高($P < 0.05$)。RT-PCR检测: IL-27P28和IL-27EBI3的mRNA相对含量: 与UC组比较, H组和L组明显增高($P < 0.05$); 而IL-12P19与IL-23P35的mRNA相对含量显著低于UC组($P < 0.05$)。结论: IL-27对UC有防护作用, 其机制可能与抑制IL-12、IL-23, 促进IL-27、IL-35的表达有关。

关键词

溃疡性结肠炎, 炎症性肠病, IL-27, IL-12家族成员

Effect and Mechanism of IL-27 on the Treatment of Ulcerative Colitis in Mice

Yinjun Wang¹, Li Xiang¹, Xingchao Yan²

¹Department of Gastroenterology, Longgang District People's Hospital of Shenzhen, Shenzhen Guangdong

²Longgang District Jixiang Business Community Party Branch, Shenzhen Guangdong

文章引用: 王银君, 项立, 闫兴超. IL-27 对小鼠溃疡性结肠炎的治疗作用及机理探讨[J]. 临床医学进展, 2023, 13(7): 11499-11505. DOI: [10.12677/acm.2023.1371607](https://doi.org/10.12677/acm.2023.1371607)

Abstract

Objective: To study IL-27 treatment on dextran sodium sulfate (DSS)-induced ulcerative colitis in mice and the expression of IL-12 family members (IL-12, IL-23, IL-27 and IL-35). **Methods:** Balb/c mice ulcerative colitis model was induced using DSS preparation. The mice were divided into control group (NC), model group (UC), IL-27 high dose group (H), IL-27 low dose group (L). UC group to the physiological saline, H and L groups respectively to the IL-27 1 $\mu\text{g}/20\text{g}/\text{day}$, IL-27 0.2 $\mu\text{g}/20\text{g}/\text{day}$ subcutaneous injection treatment for 4 days, observe the general situation and collect serum and colon tissue specimens. with ELISA method to detect the level of IL-12, IL-23, IL-27, IL-35 in serum; by RT-PCR method detecting the mRNA relative content of IL-27EBI3, IL-12P19, IL-23P35 in the colon tissue in mice. **Results:** DAI, MPO level increased significantly ($P < 0.05$); H and L group compared with UC group significantly decreased ($P < 0.05$); Body weight in mice, colon length, weight and spleen weight significantly decreased ($P < 0.05$), compared with UC group, H and L group increased ($P < 0.05$). ELISA results: IL-12, IL-23 levels increased in UC group ($P < 0.05$); H, L group IL-12, IL-23 levels significantly decreased ($P < 0.05$); Compared with NC group, the expression of IL-27 in UC group slightly increased; H, L group significantly increased ($P < 0.05$); Compared with NC group, the expression of IL-35 in the UC group significantly decreased, H, L group significantly increased ($P < 0.05$). Rt-pcr detection: IL-27P28 and IL-27EBI3 mRNA relative content: compared with UC group, H and L group significantly increased ($P < 0.05$); IL-12P35 and IL-23P19 mRNA relative content was significantly lower than UC group ($P < 0.05$). **Conclusion:** IL-27 of UC has protective effect, its mechanism may be related to inhibition of IL-12, IL-23, promoting the expression of IL-27 and IL-35.

Keywords

Ulcerative Colitis, Inflammatory Bowel Disease, IL-27, IL-12 Members of the Family

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一种慢性非特异性肠道炎症性疾病,以腹痛、腹泻、黏液血便为主要临床特征,病程较长,易反复发作。由于 UC 的发病机制尚未完全阐明,其治疗仍是临床上的一大难题。目前认为 CD4⁺T 细胞和各种炎性因子介导的免疫反应与 UC 的发生发展关系密切[1] [2]。IL-12 家族成员是一类异二聚体的炎性细胞因子,包含 IL-12、IL-23、IL-27、IL-35,其在影响 CD4⁺T 淋巴细胞的分化成熟中起着重要作用。其中 IL-27 是具有促炎和抗炎双重作用的细胞因子,有研究显示 IL-27 对多发性硬化症[3]、类风湿性关节炎[4]、实验性自身免疫性心肌炎[5]、系统性红斑狼疮[6]等具有一定的治疗作用。IL-27 是否对 DSS 诱导的 UC 小鼠体内 IL-12 家族成员的表达有影响尚未见报道。本研究拟通过皮下注射 IL-27 干预 DSS 诱导的 UC 小鼠模型,评价其治疗效果和对 IL-12 其他家族成员的影响,为寻找一种具有开发潜力的治疗 UC 的新细胞因子调节剂提供理论依据。

2. 材料与方法

2.1. 实验动物

清洁级健康 BALB/c 小鼠，雌雄各半，6~8 周龄，体质量 18~22 g，购于广东省实验动物中心。

2.2. 主要试剂及仪器

IL-27 购于 E Bioscience 公司，DSS 购于 Pharmacia 公司(50(X)MW, F0046)。IL-35、IL-23、IL-27ELISA 试剂盒购于上海朗顿生物科技有限公司，IL-12、INF- γ 购于武汉博士德生物有限公司。PCR 反转录、扩增试剂盒购于 TAKARA 公司。仪器：激光共聚焦显微镜(Olympus 公司)；紫外分光光度计(Nano Drop Technologies, Inc 公司)；ABI7500PCR 仪(ABI 公司)。

2.3. 实验动物分组

小鼠习惯性喂养 1 周后，称重，随机分 4 组后编号，分别为正常(NC)组，模型(UC)组，IL-27 高剂量(H)组，IL-27 低剂量(L)组。

2.4. 小鼠 UC 模型建立

按经典[7]方法，给予 UC 组、H 组、L 组小鼠自由饮用 3.5% DSS 水溶液 7 天，NC 组小鼠自由饮用蒸馏水 7 天。造模期间，每天称重小鼠质量并记录，每天观察小鼠毛色、活动度，睡眠、饮食情况，排便、便血情况，分别记录。取材前记录小鼠体重、大便性状和隐血或便血情况，参照 DAI 评分方法，作为疾病活动指数(disease activity index, DAI) (如表 1)。

Table 1. Rat DAI scoring table
表 1. 大鼠 DAI 评分表

体重下降(%)	大便性状	大便隐血、肉眼血便	计分
0	正常	正常	0
1~5			1
6~10	半稀便	隐血(+)	2
10~15			3
>15	稀便	肉眼血便	4

注：计算公式：DAI = (体重下降分数 + 大便性状分数 + 便血分数)/3。

2.5. 给药及标本获取、保存

造模结束后，UC 组、H 组、L 组分别予生理盐水 0.2 ml，IL-27 水溶液 1 μ g/20g/天和 0.2 μ g/20g/天皮下注射 4 天，每天定时称体重，观察精神、睡眠、饮食情况，大便、便血情况，做好记录。第 5 天眼球取血，置于 EDTA 管中，提取血清，于-20℃保存。取血后，立即剖腹取出肛门到盲肠末端段结肠，生理盐水冲洗干净后，测量所取结肠长度，称重，按要求分别保存结肠组织。此外，取出小鼠脾脏，称重后，于液氮中冻存。

2.6. 检测指标

HE 染色按常规脱水，切片，制片，脱腊，HE 染色，封片，于显微镜观察并拍照。
MPO 测定按说明书方法步骤进行。

ELISA 法测小鼠血清中 IL-12, IL-23, IL-27, IL-35 的表达水平, 严格按照各试剂盒说明书方法步骤操作。

逆转录 - 聚合酶链反应(RT-PCR)测定相关因子用 TRIzol 二步法提取总 RNA, 按说明书进行逆转录反应合成 cDNA. 逆转录产物 cDNA 用于 PCR 扩增。严格按照 PCR 扩增试剂盒进行 RT-PCR 扩增。主要检测的因子有 IL-27P28, IL-27EBI3, IL-12P35, IL-23P19 以 GAPDH 为内参照, 所设计的引物如表 2。

Table 2. Primer design

表 2. 引物设计

IL-27P28	上 5'-AGGAAGAGGAAGAGGAGGAAGA-3'
	下 5'-ACACTT -GGGATGACACCTGATT-3'
IL-27EBI3	上 5'-C AGATTATGGGAAACCAAGTGA-3'
	下 5'-CACCCCTCAAGTA GACGACATCA-3'
IL-12P35	上 5'-ATGACC -CTGTGCCTTGGTAG-3'
	下 5'-TGCTGATGGTTGTGATTCTGA -3'
IL-23P19	上 5'-GGACTTTGTGCTGTTC -TTGTTTT-3'
	下 5'-TCTGGGGTTTGTTCCTTTTCTC-3'
GAPDH	上 5'-AGGCCGGTGCTGAGTATGTC-3'
	下 5'-TGCCTGCTTCA CCACCTTCT-3'

2.7. 数据统计分析

结果用软件 SPSS19.0 进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 定量资料采用单因素方差分析; 以 $P < 0.05$ 为有统计学差异。

3. 结果

3.1. 各组小鼠一般状况

UC 组、H 组、L 组小鼠造模期间出现扎堆、少动、少食、体重明显下降等表现; 并在造模的第 4 天开始, 小鼠出现稀便, 肛门污秽、肛门带血等表现; 第 5 天开始出现便血等情况。大便隐血实验阳性。给药后, H 组小鼠体重稍有增加, 血便情况逐渐好转。L 组改善不明显。与 NC 组比较, UC 组小鼠体重、结肠重量、结肠长度、脾脏重量明显降低, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 与 UC 组比较, H 组和 L 组体重、结肠重量、结肠长度、脾脏重量均增加, 具有显著性差异($P < 0.05$) (如表 3)。

Table 3. Comparison of General Conditions of Mice ($\bar{x} \pm s$)

表 3. 小鼠一般状况比较 ($\bar{x} \pm s$)

分组	n	体重(g)	结肠长度(cm)	结肠重量(g)	脾脏重量(g)
NC 组	8	20.59 $\pm$ 0.44	10.29 $\pm$ 0.46	0.29 $\pm$ 0.04	0.141 $\pm$ 0.021
UC 组	8	17.49 $\pm$ 1.54 ^a	5.84 $\pm$ 0.79 ^a	0.20 $\pm$ 0.03 ^a	0.052 $\pm$ 0.013 ^a
H 组	8	19.43 $\pm$ 1.06 ^{ab}	8.20 $\pm$ 1.12 ^{ab}	0.28 $\pm$ 0.05 ^{ab}	0.078 $\pm$ 0.023 ^{ab}
L 组	8	18.63 $\pm$ 1.50 ^{ab}	6.76 $\pm$ 0.92 ^{ab}	0.24 $\pm$ 0.04 ^{ab}	0.061 $\pm$ 0.014 ^{ab}

注: 与 NC 组相比, ^a $P < 0.05$; 与 UC 组相比, ^b $P < 0.05$ 。

3.2. 结肠组织病理学改变

1) DAI 评分: 与 NC(0)组比较, UC 组、H 组、L 组明显增高, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 与 UC (3.625 ± 0.076)组相比, H (1.917 ± 0.105)组、L (2.542 ± 0.061)组均升高($P < 0.05$)。

2) MPO 表达水平: 与 NC (6.17 ± 0.48)组比较, UC 组(8.204 ± 0.79), H (6.206 ± 0.92)组和 L (6.421 ± 1.08)组明显增加, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。与 UC 组比较, H 组与 L 组表达明显降低, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。

3) HE 染色显微镜下观察: 显微镜下可见 NC 组小肠黏膜形态完整, 肠黏膜上皮完整、连续, 刷状缘清晰可见, 结构清楚, 细胞形态无异常; UC 组与 NC 组相比, 小鼠肠黏膜上皮破坏严重, 仅存少量腺体且结构排列紊乱, 大量炎症细胞浸润, 主要累及黏膜层和黏膜下层; H 组也存在肠黏膜上皮的破坏, 但较 UC 组其淋巴结增大不明显, 仅见少量炎症细胞分布; L 组结肠粘膜较 UC 组稍有好转(如图 1)。

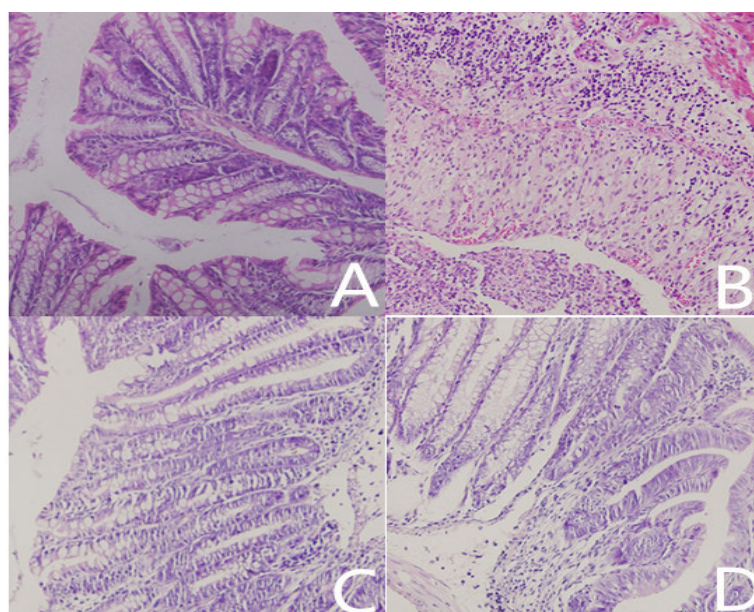


Figure 1. HE staining pathological changes observed

图 1. HE 染色病理改变所见(A 图为正常组; B 图为 UC 组; C 图为高组; D 图为低组)

3.3. ELISA 检测小鼠血清 IL-12、IL-23、IL-27、IL-35 的表达

小鼠血清中 IL-12 和 IL-23 的表达: 与 NC 组比较, UC 组明显增高, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 与 UC 组比较, H 组和 L 组明显降低, 差异有统计学意义($P < 0.05$); IL-27 的表达: 与 NC 组比较, UC 组, 稍有增高, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 与 UC 组比较, H 组和 L 组明显增高, 差异有统计学意义($P < 0.05$); IL-35 的表达: 与 NC 组比较, UC 组明显降低, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 与 UC 组比较, H 组和 L 组明显增高, 差异有统计学意义($P < 0.05$) (如表 4)。

3.4. RT-PCR 检测小鼠结肠组织 IL-27P28, IL-27EBI3, IL-12P35, IL-23P19 的 mRNA 相对含量的表达

小鼠结肠组织中 IL-27P28 和 IL-27EBI3 的 mRNA 相对含量: 与 UC 组比较, H 组, L 组明显增高, 差异有统计学意义($P < 0.05$); IL-12P35 与 IL-23P19 的 mRNA 相对含量与 UC 组比较, H 组, L 组明显降低, 差异有统计学意义($P < 0.05$) (如表 5)。

Table 4. Comparison of serum IL-12, IL-23, IL-27, and IL-35 in each group of mice ($\bar{x} \pm s$)
表 4. 各组小鼠血清 IL-12、IL-23、IL-27 和 IL-35 比较($\bar{x} \pm s$)

分组	N	IL-12 (pg/ml)	IL-23 (ng/L)	IL-27 (ng/L)	IL-35 (ng/L)
NC 组	8	14.94 ± 9.40	7.52 ± 2.59	1.88 ± 0.35	2.19 ± 0.15
UC 组	8	133.70 ± 64.76 ^a	11.95 ± 1.55 ^a	13.80 ± 1.92 ^a	1.42 ± 0.73 ^a
H 组	8	31.41 ± 15.75 ^{ab}	8.07 ± 2.28 ^{ab}	31.27 ± 0.27 ^{ab}	1.75 ± 0.27 ^{ab}
L 组	8	35.03 ± 23.75 ^{ab}	6.05 ± 2.10 ^{ab}	22.02 ± 1.22 ^{ab}	1.63 ± 0.39 ^{ab}

注：与 NC 组相比，^a $P < 0.05$ ；与 UC 组相比，^b $P < 0.05$ 。

Table 5. Comparison of mRNA relative contents of IL-27P28, IL-27EBI3, IL-12P35, and IL-23P19 in mouse colon tissue ($\bar{x} \pm s$)
表 5. 小鼠结肠组织中 IL-27P28, IL-27EBI3, IL-12P35, IL-23P19 的 mRNA 相对含量比较($\bar{x} \pm s$)

分组	N	IL-27P28	IL-27EBI3	IL-12P35	IL-23P19
UC 组	8	0.48 ± 0.15	0.56 ± 0.19	0.64 ± 0.19	0.81 ± 0.74
H 组	8	0.61 ± 0.13 ^a	0.63 ± 0.19 ^a	0.41 ± 0.79 ^a	0.49 ± 0.19 ^a
L 组	8	0.56 ± 0.22 ^a	0.62 ± 0.19 ^a	0.52 ± 0.22 ^a	0.65 ± 0.11 ^a

注：与 UC 组相比，^a $P < 0.05$ 。

4. 讨论

UC 是一类反复发作的，弥漫性的炎症。近年来在我国报告的病例不断增加，且其有可能导致癌变[8]。UC 发病机制还不清楚，有研究认为 Th1 和 Th2 细胞亚群失衡在 UC 的发生发展中起主导作用[9]。也有研究显示：细胞亚群及其产生的细胞因子间平衡紊乱在 UC 的发生发展中起重要的作用[10]。

DSS 诱导的 UC 模型是目前研究 UC 动物模型的经典方法之一。该模型简单易操作，重复性好，其临床症状及结肠病理变化符合人类 UC 特点。本实验通过饮用 DSS 造模，自由饮用 3.5% DSS3 天后，小鼠出现饮食和体重剧减、懒动等，第 4 天小鼠出现腹泻、血便等。取材时，发现 UC 模型小鼠体重，结肠重量，脾脏重量等明显减轻，结肠长度明显缩短。将小鼠结肠沿纵轴剪开肉眼观察：UC 组小鼠结肠黏膜有大片充血水肿灶，并伴有多处糜烂、溃疡形成；病理切片显微镜下观察：UC 组小鼠结肠粘膜出现大片坏死，形成溃疡，各层次结构混乱不清，黏膜及黏膜下层大量炎细胞浸润，间质充血水肿，粘膜厚度变厚；此外，UC 组小鼠 DAI 评分明显增高，MPO 活性明显增高等，这些都与前人研究的 DSS 诱导的 UC 小鼠模型一致。由此说明小鼠 UC 模型是成功的。

IL-27 (InterleukinL-27)是 IL-12 家族成员之一，IL-12 家族除了 IL-27 之外，还包括 IL-12、IL-23、IL-35。IL-12 是一种促炎性细胞因子，在诱导初始 CD4⁺T 细胞向 Th1 分化并促进 Th1 产生 IFN γ 中起关键作用。有研究显示在白塞病[11]、炎症性肠病[12]中，IL-12 的表达明显升高；IL-23 作为一种免疫调节细胞因子，其主要的生物作用是促进细胞免疫，近年来的研究揭示 IL-23 在多发硬化症的病理过程中发挥重要作用[13]；在克罗恩病[14]中，其表达也是增高的；有人研究 IL-35 在胶原诱导的关节炎模型中的表达，证实注射 IL-35 后小鼠关节炎的发生率显著降低，这表明 IL-35 是一种抑制炎症的细胞因子[15]。本研究显示，UC 与 NC 比较，IL-12、IL-23 的表达水平平均上调，而 IL-35 的表达水平有所减低；IL-27 治疗后，IL-12，IL-23 的表达明显降低，而 IL-35 的表达升高，所以 IL-27 对 UC 的防护作用可能是通过影响 IL-12 家族成员的表达实现的。

总之，本研究通过 IL-27 皮下注射干预实验性结肠炎小鼠，发现 IL-27 能够通过调节 IL-12 家族成员

的表达抑制结肠炎的炎症反应。因此, IL-27 对小鼠 UC 的防护作用可能是通过上调 IL-27, IL-35, 下调 IL-12, IL-23 实现的。这为 UC 治疗提供了新思路。

参考文献

- [1] Zhang, Z., Hinrichs, D.J., Lu, H., *et al.* (2007) After Interleukin-12p40, Are Interleukin-23 and Interleukin-17 the Next Therapeutic Targets for Inflammatory Bowel Disease? *International Immunopharmacology*, **7**, 409-416. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2006.09.024>
- [2] Sheibanie, A.F., Yen, J.H., Khayrullina, T., *et al.* (2007) The Proinflammatory Effect of Prostaglandin E2 in Experimental Inflammatory Bowel Disease Is Mediated through the IL-23→IL-17 Axis. *The Journal of Immunology*, **178**, 8138-8147. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.178.12.8138>
- [3] Sweeney, C.M., Lonergan, R., Basdeo, S.A., *et al.* (2011) IL-27 Mediates the Response to IFN- β Therapy in Multiple Sclerosis Patients by Inhibiting Th17 Cells. *Brain, Behavior, and Immunity*, **25**, 1170-1181. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2011.03.007>
- [4] Tanida, S., Yoshitomi, H., Ishikawa, M., *et al.* (2011) IL-27-Producing CD14⁺ Cells Infiltrate Inflamed Joints of Rheumatoid Arthritis and Regulate Inflammation and Chemotactic Migration. *Cytokine*, **55**, 237-244. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2011.04.020>
- [5] 吴红霞, 刘嫣方, 胡晨晨, 等. IL-27 对实验性自身免疫性心肌炎的干预作用研究[J]. 新医学, 2011, 42(12): 833-835.
- [6] Pan, H.F., Tao, J.H. and Ye, D.Q. (2010) Therapeutic Potential of IL-27 in Systemic Lupus Erythematosus. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, **14**, 479-484. <https://doi.org/10.1517/14728221003769911>
- [7] Okayasu, I. (2012) Development of Ulcerative Colitis and Its Associated Colorectal Neoplasia as a Model of the Organ-Specific Chronic Inflammation-Carcinoma Sequence. *Pathology International*, **62**, 368-380. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1827.2012.02807.x>
- [8] Rubin, D.C., Shaker, A. and Levin, M.S. (2012) Chronic Intestinal Inflammation: Inflammatory Bowel Disease and Colitis-Associated Colon Cancer. *Frontiers in Immunology*, **3**, Article 107. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2012.00107>
- [9] Chao, K., Zhong, B.H., Zhang, S.H., *et al.* (2011) Imbalance of CD4⁺ T Cell Subgroups in Ulcerative Colitis. *Chinese Medical Journal*, **91**, 1605-1608.
- [10] Engel, M.A. and Neurath, M.F. (2010) New Pathophysiological Insights and Modern Treatment of IBD. *Journal of Gastroenterology*, **45**, 571-583. <https://doi.org/10.1007/s00535-010-0219-3>
- [11] Xavier, J.M., Shahram, F., Davatchi, F., *et al.* (2012) Association Study of IL10 and IL23R-IL12RB2 in Iranian Patients with Behçet's Disease. *Arthritis & Rheumatology*, **64**, 2761-2772. <https://doi.org/10.1002/art.34437>
- [12] Nielsen, O.H., Kirman, I., Rüdiger, N., Hendel, J. and Vainer, B. (2003) Upregulation of Interleukin-12 and -17 in Active Inflammatory Bowel Disease. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, **38**, 180-185. <https://doi.org/10.1080/00365520310000672>
- [13] Bartosik-Psujek, H. and Stelmasiak, Z. (2005) Correlations between IL-4, IL-12 Levels and CCL2, CCL5 Levels in Serum and Cerebrospinal Fluid of Multiple Sclerosis Patients. *Journal of Neural Transmission*, **112**, 797-803. <https://doi.org/10.1007/s00702-004-0225-9>
- [14] Neurath, M.F. (2007) IL-23: A Master Regulator in Crohn Disease. *Nature Medicine*, **13**, 26-28. <https://doi.org/10.1038/nm0107-26>
- [15] Seyerl, M., Kirchberger, S., Majdic, O., *et al.* (2010) Human Rhinoviruses Induce IL-35-Producing Treg via Induction of B7-H1 (CD274) and Sialoadhesin (CD169) on DC. *European Journal of Immunology*, **40**, 321-329. <https://doi.org/10.1002/eji.200939527>