

Map4k1 缺失对 DSS 诱导的小鼠结肠炎的保护作用

隋丽娜¹, 肖秋香², 陈小明¹, 何文姬¹, 何天生¹, 刘志平¹

(1. 赣南医科大学基础医学院江西省教育厅天然免疫与慢性炎症性疾病研究重点实验室;

2. 赣南医科大学第一附属医院病理科, 江西 赣州 341000)

摘要:目的:探究有丝分裂原激活蛋白激酶1(Mitogen-activated protein kinase kinase kinase 1, MAP4K1)在小鼠结肠炎发展过程中的作用,并明确其作用机制。方法:通过 GEO 数据库分析 MAP4K1 在炎症性肠病(Inflammatory bowel diseases, IBD)患者肠道组织中的表达情况。利用 3% 葡聚糖硫酸钠(Dextran sulfate sodium salt, DSS)诱导的实验性结肠炎模型,通过 HE 染色、RT-qPCR 等技术验证 MAP4K1 在炎症及组织损伤中的作用。采用流式细胞术和免疫组织化学染色(Immunohistochemistry, IHC)分析 MAP4K1 对肠上皮屏障功能和细胞凋亡、坏死等死亡方式的影响,以及其在免疫细胞浸润中的作用。研究 MAP4K1 对上皮细胞完整性和凋亡的调控作用,并探讨其与 p53 信号通路的关系。结果:GEO 数据库分析结果显示,相比健康人群,IBD 患者肠道中 *Map4k1* mRNA 表达水平上调。动物实验表明,相较于野生型(Wild type, WT)小鼠, *Map4k1* 基因敲除型(*Map4k1*^{-/-})小鼠在 DSS 诱导的实验性结肠炎模型中结肠炎症状减轻,具体表现为体重下降减缓、结肠长度缩短程度降低、组织病理损伤减轻、小鼠的炎症相关细胞因子(*Il6*、*Tnf*、*Kc*、*Mcp-1*等)mRNA 表达水平也显著降低,同时抑制了 I κ B 的磷酸化。机制研究发现, *Map4k1* 缺失可促进肠上皮完整性及屏障相关分子(*Muc2*、*E-cadherin*等)mRNA 及蛋白表达水平升高。DSS 处理后,WT 小鼠与 *Map4k1*^{-/-} 小鼠肠道免疫细胞[巨噬细胞(Macrophages, MACs)、树突状细胞(Dendritic cells, DCs)与中性粒细胞(Polymorphonuclear leukocytes, PMNs)]的浸润和活化水平相似。然而,与 WT 小鼠相比, *Map4k1*^{-/-} 小鼠中抗凋亡蛋白 Bcl-2 与促凋亡蛋白 Bax 的比值显著增加。同样,过表达 *Map4k1* 后,上皮细胞凋亡增加。进一步研究发现, *Map4k1* 缺失可以抑制 p53 表达。结论:MAP4K1 在 IBD 中表达上调,其缺失可减轻 IBD 症状,可能通过激活 p53 诱导肠上皮细胞凋亡推动结肠炎发展。

关键词:有丝分裂原激活蛋白激酶1;炎症性肠病;p53;细胞凋亡;肠上皮屏障

中图分类号:R392 文献标志码:A 文章编号:2097-7174(2026)02-0099-13

DOI:10.3969/j.issn.2097-7174.2026.02.001

The protective effect of *Map4k1* deficiency on DSS induced colitis in mice

SUI Lina¹, XIAO Qiuxiang², CHEN Xiaoming¹, HE Wenji¹, HE Tiansheng¹, LIU Zhiping¹

(1. Key Laboratory of Innate Immunity and Chronic Inflammatory Diseases, Jiangxi Provincial Department of Education, School of Basic Medicine, Gannan Medical University; 2. The Department of Pathology, The First Affiliated Hospital of Gannan Medical University, Ganzhou, Jiangxi 341000)

Abstract: Objective: To explore the role of mitogen-activated protein kinase kinase kinase 1 (MAP4K1) in the development of colitis in mice and its mechanism of action. **Methods:** The expression of MAP4K1 in the intestinal tissue of inflammatory bowel disease (IBD) patients was analyzed through the GEO database. An experimental colitis model was induced by 3% dextran sulfate sodium salt (DSS). HE staining and RT-qPCR were used to verify the role of MAP4K1 in inflammation and tissue damage. Flow cytometry and immunohistochemistry were used to analyze the effect of MAP4K1 on intestinal epithelial barrier function and cell apoptosis/necrosis, and its role in immune cell infiltration. The regulatory role of MAP4K1 on epithelial cell integrity and apoptosis, and its relationship with the p53 signaling pathway were also studied. **Results:** Analysis of the GEO database showed that the expression level of *Map4k1* mRNA in the intestine

基金项目:国家自然科学基金项目(31960163);江西省林业局油茶研究专项项目(YCYJZX2023312);江西省自然科学基金项目(20242BAB26091,20232BAB216036);江西省卫生健康委员会项目(202311176);赣州市指导性科技计划项目(GZ2024ZSF156)

通信作者:刘志平,男,博士,教授,博士生导师,研究方向:炎症与癌症的免疫学机制。E-mail:Zhiping.Liu@gmu.cn

of IBD patients was up-regulated compared with that of normal people. Animal experiments indicated that, in comparison with wild-type (WT) mice, *Map4k1*^{-/-} mice exhibited alleviated colitis symptoms in the DSS-induced experimental colitis model, which were specifically characterized by slowed weight loss, reduced colon length shortening, attenuated histopathological damage, significantly decreased mRNA expression levels of inflammation-related cytokine genes (including *Il6*, *Tnf*, *Kc*, and *Mcp-1*) in mice. additionally, phosphorylation of I κ B was inhibited. Mechanistic studies found that the absence of *Map4k1* enhanced intestinal epithelial integrity and increased the mRNA and protein expression levels of barrier-related molecules (*Muc2*, *E-cadherin*, etc.). After DSS treatment, the infiltration and activation levels of intestinal immune cells [macrophages (MACs), dendritic cells (DCs) and polymorphonuclear leukocytes (PMNs)] were similar between WT and *Map4k1*^{-/-} mice. However, the ratio of the anti-apoptotic protein Bcl-2 to the pro-apoptotic protein Bax was significantly increased in *Map4k1*^{-/-} mice compared to WT mice. Similarly, overexpression of *Map4k1* led to increased epithelial cell apoptosis. Further research indicated that *Map4k1* deficiency could suppress the expression of p53. **Conclusion**: MAP4K1 is upregulated in IBD patients. Its deficiency alleviates IBD symptoms, possibly promoting colitis development by activating p53 to induce apoptosis of intestinal epithelial cells.

Key words: Mitogen-activated protein kinase kinase kinase 1; Inflammatory bowel disease; p53; Cell apoptosis; Intestinal epithelial barrier

研究表明,炎症性肠病(Inflammatory bowel diseases, IBD)的发病率在发展中国家呈现出持续增长的趋势^[1-3]。IBD主要包括克罗恩病(Crohn's disease, CD)和溃疡性结肠炎(Ulcerative colitis, UC),是一种慢性反复发作的肠道炎症性疾病,其临床特点表现为持续性炎症、腹痛、直肠出血、腹泻以及营养不良^[4]。IBD已被证实是结直肠癌的重要危险因素之一^[5]。IBD的发病机制被认为是肠道微生物或微生物产物与肠道上皮细胞和局部免疫系统的相互作用,导致黏膜免疫反应异常,从而产生大量炎性细胞因子(IL6、Tnf、Kc、Mcp-1等)^[6]。研究表明,IBD患者的结肠黏液层恶化明显,肠上皮屏障的破坏程度与炎性细胞因子的表达水平呈正相关^[7]。

有丝分裂原激活蛋白激酶 1(Mitogen-activated protein kinase kinase kinase 1, MAP4K1)在多种组织中的表达水平存在显著差异^[8]。值得注意的是,MAP4K1在所有类型的造血细胞和免疫细胞中均有表达^[9],且在细胞增殖和凋亡过程中发挥着复杂作用^[10]。MAP4K1参与多种细胞事件,包括ERK信号通路、NF- κ B信号通路、细胞因子信号通路、细胞增殖和凋亡、TCR/BCR信号转导和T/B/树突状细胞介导的免疫应答,在体内发挥着复杂而重要作用^[11-13]。

MAP4K1作为蛋白激酶,促进LFA-1介导的中性粒细胞(Polymorphonuclear leukocytes, PMNs)黏附诱导,促进PMNs的黏附和迁移,从而促进急性炎症的发展^[14]。在先病毒病毒感染中,MAP4K1可由泛素连接酶DTX4通过K48连接的泛素化促进TBK1/IKK ϵ 降解,导致IFN信号通路的负调节,从而抑制RLR信号转导,抗先天病毒免疫^[15]。研究发现,MAP4K1在

系统性红斑狼疮(Systemic lupus erythematosus, SLE)患者滤泡辅助T细胞(T follicular helper cells, Tfh cells)中表达较低,其mRNA的表达水平与SLE患者的疾病活动性呈负相关。并且MAP4K1可通过多种机制抑制SLE的发病和进展^[16-18]。同时有研究^[19-22]发现,MAP4K1在结直肠癌、胶质母细胞瘤、胰腺导管腺癌等不同肿瘤中也发挥着重要且复杂作用。研究发现*Pdcd4*敲除可以上调MAP4K1表达,进而通过c-Myc激活AP-1依赖性转录,促进结直肠癌细胞侵袭^[23]。相反,另一项研究揭示SPIB通过激活MAP4K1来增强NF- κ B和JNK信号通路的活性,从而抑制结直肠癌细胞增殖、迁移、侵袭和血管生成,并提高对化疗药物的敏感性,提示SPIB可能通过调控MAP4K1发挥其抑癌功能^[24]。这些研究共同表明,MAP4K1在结直肠癌的发生发展过程中具有复杂的调控机制。然而,IBD作为结直肠癌的危险因素,迄今尚未阐明MAP4K1在IBD发展中的作用及MAP4K1调节结肠炎发展的确切机制仍不清楚。

鉴于此,我们基于GEO数据库分析MAP4K1在IBD患者肠道组织中的表达情况。利用DSS诱导的急性肠炎模型,结合HE染色、RT-qPCR等技术,研究MAP4K1在炎症及组织损伤中的作用。探讨MAP4K1发挥作用的分子调控机制,有助于揭示其在促进炎症性结肠炎中的作用靶点,为IBD的治疗提供新策略和思路。

1 材料与方法

1.1 小鼠 选用C57BL/6遗传背景的野生型(Wild type, WT)小鼠及*Map4k1*基因敲除型

(*Map4k1*^{-/-})小鼠(6~8周龄),小鼠采购于赛业生物科技有限公司[实验动物生产许可证号:SCXK(苏)2022-0016]。所有小鼠均饲养于赣南医科大学实验动物中心 SPF 级屏障环境,采用独立通气笼盒系统进行标准化管理。动物实验方案经赣南医科大学实验动物伦理委员会审查通过(2023317),全程遵循实验动物研究指南及国家标准。

1.2 细胞 人结肠癌细胞系 HCT116 细胞、正常结肠上皮细胞 NCM460 细胞均来源于美国菌种保藏中心(American type culture collection, ATCC),经短串联重复序列(Short tandem repeat, STR)鉴定确认为贴壁依赖性细胞系。

1.3 MAP4K1 表达数据分析 利用 GEO 数据库(GSE4183、GSE66407)探讨 MAP4K1 在 IBD 患者肠道组织中的表达情况。对原始数据进行标准化处理,以消除技术误差并确保数据的可比性。基于样本

的病理状态分为 IBD 患者组和健康对照组。分析基因差异表达水平,以 $P < 0.05$ 为显著性差异标准,并进行多重比较校正以控制假阳性率。

1.4 DSS 诱导的小鼠实验性结肠炎模型的建立

使用含有 3% 葡聚糖硫酸钠(Dextran sulfate sodium salt, DSS)饮用水喂养小鼠连续 5 d,随后改为普通饮用水喂养 3 d,其间持续记录小鼠体重变化以监控其健康状况。在 DSS 处理后的第 8 d 处死小鼠,收集其结肠组织,并对结肠长度进行测量,以评估 DSS 诱导炎症对肠道形态的影响。

1.5 组织病理学分析 收集结肠组织,福尔马林固定 24 h,石蜡包埋,切片(4 μm)后用苏木精-伊红(Hematoxylin eosin, HE)染色。根据炎症浸润程度、溃疡程度、黏膜增生程度和病变范围,对切片进行组织病理学评分。评分标准见表 1。

表 1 小鼠结直肠 HE 染色炎症评分标准

评分	炎症浸润程度	溃疡程度	黏膜增生程度	病变范围
0分	正常	正常	正常	无
1分	固有层	1~2处溃疡和<20个隐窝	2~3倍厚度	0~30%
2分	黏膜下层	1~4处溃疡和20~40个隐窝	2~3倍/上皮染色/杯状细胞减少/腺体分支	31%~70%
3分	全层	>4处溃疡和<40个隐窝	4倍/上皮染色/杯状细胞/核分裂/腺体分支	>70%

1.6 实时荧光定量 PCR(RT-qPCR) 使用酚-氯仿法从组织或细胞样本中提取总 RNA,并利用 NanoDrop 仪器进行质量控制。提取的 RNA 经过 gDNA Eraser 试剂盒去基因组处理后,逆转录为 cDNA,并进行 5 倍稀释。取 1 μL 稀释后的 cDNA 作为模板,加入 10 μL 的 SYBR Green 荧光染料,配制 qPCR 反应体系。PCR 反应条件设置为:初始变性 95 $^{\circ}\text{C}$ 5 min,随后进行 40 个循环,每个循环包括 95 $^{\circ}\text{C}$ 30 s 的变性和 60 $^{\circ}\text{C}$ 1 min 的退火。最后,通过熔解曲线分析验证引物的特异性。以 *Actb* 作为管家基因,计算目标基因的相对表达量。引物序列见表 2。

1.7 蛋白免疫印迹(Western-blot, WB) 采用双缩脲法(Bicinchoninic acid, BCA)精确测定蛋白浓度。通过 SDS-PAGE 凝胶电泳分离蛋白,之后将蛋白转移到 PVDF 膜上。转移完成后,对膜进行封闭处理以减少非特异性结合。加入一抗进行孵育,再加入与一抗相对应的二抗孵育。孵育后,彻底清洗膜以去除未结合的抗体。最后,使用增强化学发光(Enhanced chemiluminescence, ECL)对比液进行印迹显影,并通过 Image J 软件对条带进行定量分析,以评估蛋白的表达水平。抗体信息见表 3。

1.8 过表达 *Map4k1* 质粒构建 将 *Map4k1* 基因克隆到一个带有强启动子的真核表达载体中。使用限制性内切酶对载体和含有 *Map4k1* 基因的 DNA 进行切割,并利用 T4 DNA 连接酶将 *Map4k1* 基因插入到载体的多克隆位点。构建好的质粒通过测序验证无误后,使用脂质体转染试剂(Lipo8000™转染试剂,碧云天)将质粒转染到目标上皮细胞中,以实现 *Map4k1* 基因过表达。转染 24 h 后,通过 WB 等方法检测 MAP4K1 表达水平。

1.9 免疫组织化学染色(Immunohistochemistry, IHC) 将小鼠结直肠组织切片固定于福尔马林溶液并嵌入石蜡块,随后进行脱蜡、水化处理。对切片进行抗原修复,以暴露抗原位点。通过封闭液阻断非特异性结合,一抗过夜孵育,二抗孵育以检测一抗结合。使用二氨基联苯胺(Diaminobenzidine, DAB)显色,并在显微镜下观察和分析染色结果,以评估目标蛋白在组织中的表达和分布。抗体信息见表 3。

1.10 流式细胞术(Flow cytometry, FCM) 将细胞悬液与特定荧光标记的抗体混合,以识别目标细胞群体。孵育后,通过流式细胞仪进行检测,设置

表2 RT-qPCR引物序列

基因(鼠)	上游引物(5'→3')	下游引物(5'→3')
<i>Il6</i>	ATGGATGCTACCAAAGTGGAT	TGAAGGACTCTGGCTTTGTCT
<i>Tnf</i>	TGCCTCAGCCTCTTCTCATT	GCTTGGTGGTTTGCTACGAC
<i>Il1b</i>	TTCAGGCAGGCAGTATCACTCATTG	ACACCAGCAGTTATCATCATCATCC
<i>Actb</i>	GTGACGTTGACATCCGTAAAGA	GCCGGACTCATCGTACTCC
<i>Kc</i>	CTGGGATTCACCTCAAGAACATC	CAGGGTCAAGGCAAGCCTC
<i>Mcp1</i>	CTTCTGGGCCTGCTGTCA	CCAGCCTACTCATTGGATCA
<i>Cxcr2</i>	ATGCCCTCTATTCTGCCAGAT	GTGCTCCGGTTGTATAAGATGAC
<i>Ccl4</i>	TTCCTGCTGTTTCTTTACACCT	CTGTCTGCCTCTTTTGGTCAG
<i>S100a8</i>	AAATCACCATGCCCTCTACAAG	CCCACCTTTTATCACCATCGCAA
<i>S100a9</i>	ATACTCTAGGAAGGAAGGACACC	TCCATGATGTCATTTATGAGGGC
<i>Tgfb</i>	CTCCCGTGGCTTCTAGTGC	GCCTTAGTTTGGACAGGATCTG
<i>Muc2</i>	GCTGACGAGTGGTTGCTGAA	GATGAGGTGGCAGACAGGAGAC
<i>Muc3</i>	CGTGGTCAACTGCGAGAATG	CGGCTCTATCTCTACGCTCTCC
<i>Muc4</i>	CAGCAGCCAGTGGGGACAG	CTCAGACACAGCCAGGGAAGCTC
<i>Tjp1</i>	GCCGCTAAGAGACACAGCAA	TCCCCTACTCTGAAAATGAGGA
<i>Cdh1</i>	CAGGTCTCTCATGGCTTTGC	CTTCCGAAAAGAAGGCTGTCC
<i>Desmocollin1</i>	GGTCAAGGAATCAAAAACACAGC	CCAAGCCGAGGTTGAGTGAAA
<i>Oln</i>	TTGAAAGTCCACCTCCTTACAGA	CCGGATAAAAAGAGTACGCT
<i>Ctnnb1</i>	ATGGAGCCGGACAGAAAAGC	CTTGCCACTCAGGGAAGGA

表3 抗体信息

抗体(鼠)	公司	货号	稀释比例	抗体(鼠)	公司	货号	稀释比例
IκB	CST	9242S	1:1 000	Cle-Caspase7	CST	8438	1:1 000
p-IκB	CST	2859S	1:1 000	Bcl-2	CST	3498	1:1 000
β-actin	Proteintech	66009-1-Ig	1:1 000	Bax	CST	2772S	1:1 000
Muc2	CST	272692	1:1 000	Gsdmd	Abcam	ab209845	1:1 000
E-cadhein	CST	3195	1:1 000	MLKL	CST	37705S	1:1 000
β-catenin	CST	8480S	1:1 000	p-MLKL	CST	3733S	1:1 000
Occludin	CST	91131S	1:1 000	Gpx4	Abcam	ab125066	1:1 000
MAP4K1	CST	4472S	1:1 000	Caspase-1	Adipogen	AG-20B-0042-C100	1:1 000
Caspase8	CST	4927T	1:1 000	LC3B	CST	2775S	1:1 000
Cle-Caspase8	CST	8592T	1:1 000	p53	CST	sc-126	1:1 000
Caspase3	CST	9665	1:1 000	F4/80	Servicebio	GB113373-100	1:1 000
Cle-Caspase3	CST	9661	1:1 000	CD11c	Servicebio	GB12059-100	1:1 000
Caspase7	CST	9492	1:1 000	Ly6G	Servicebio	GB11229-100	1:1 000
HRP Conjugated	Boster	BA1050	1:5 000	HRP Conjugated	Boster	BA1058	1:5 000
AffiniPureGoat				AffiniPureRabbit			
Anti-mouse IgG (H+L)				Anti-rat IgG (H+L)			

特定的门限和参数,可以区分不同的细胞亚群,并定量分析目标蛋白的表达水平。所得数据通过流式细胞分析软件进行处理和分析,以评估细胞群体的变化。

1.11 LPS 刺激细胞模型建立 培养 WT 与 *Map4k1^{-/-}* 小鼠骨髓来源的巨噬细胞(Bone marrow-

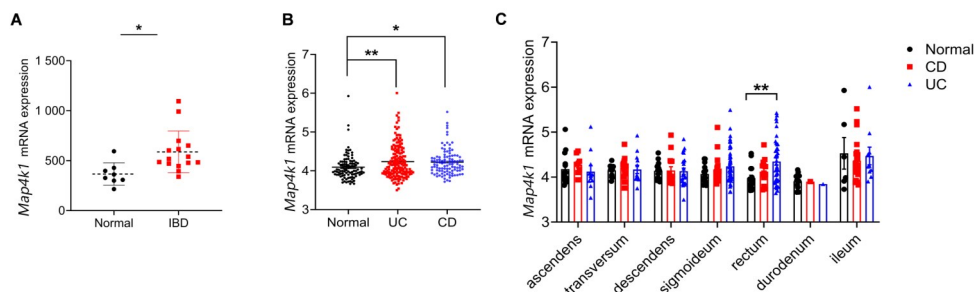
derived macrophage, BMDM) 和树突状细胞(Bone marrow-derived dendritic cells, BMDC)。将 1 μg/mL 的 LPS 与细胞培养基混合制备刺激液,均匀加入到 BMDM 或 BMDC 细胞的培养孔中,在 37 °C、5% CO₂ 培养箱中共同孵育 3 h。

1.12 统计学处理 使用 Graphpad prism 8.0 软件

进行统计分析。2 组间单因素比较使用独立样本 *t* 检验;多组间单因素比较使用单因素方差分析;两因素组间比较使用两因素方差分析和 Sidak 多重比较法;小鼠结直肠的组织病理学评分和 IHC 染色评分使用 Mann Whitney 检验及 Kruskal-Wallis 检验分析。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 *Map4k1* 基因在 IBD 患者肠道组织的表达情况 为了明确 MAP4K1 在 IBD 的发生发展中是否发挥重要作用,基于 GEO 数据库(GSE4183、GSE66407) 结果发现,相较于健康人群肠道组织,IBD 患者肠道组织中 *Map4k1* mRNA 表达水平明显升高,且差异表达主要部位为直肠组织(图 1)。由此,我们推测 *Map4k1* 基因可能参与 IBD 发生与发展。



A: 健康人群及 IBD 患者肠道组织 *Map4k1* mRNA 表达水平; B: 健康人群、UC 和 CD 患者肠道组织 *Map4k1* mRNA 表达水平; C: 健康人群、UC 和 CD 患者不同肠道部位组织中的 *Map4k1* mRNA 表达水平。Normal: 健康人群; IBD: 炎症性肠病; UC: 溃疡性结肠炎; CD: 克罗恩病; * $P<0.05$; ** $P<0.01$ 。

图 1 *Map4k1* 基因在健康人群及 IBD 患者肠道组织的表达

2.2 MAP4K1 促进 DSS 诱导结肠炎的发生发展

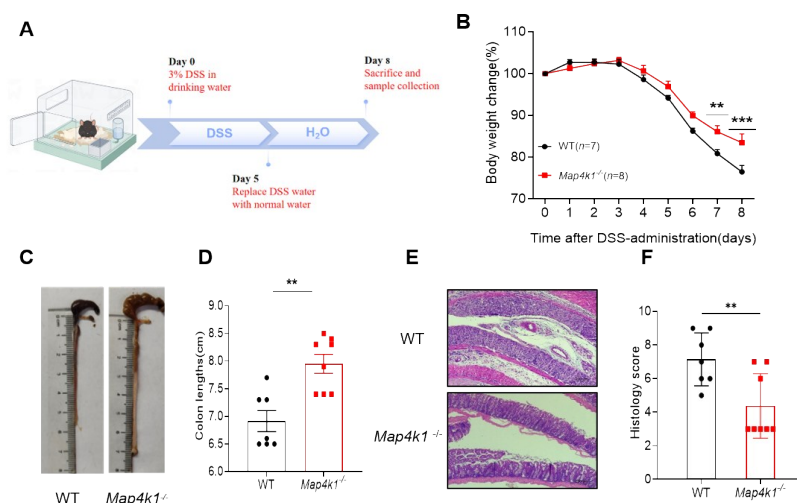
为了进一步探究 MAP4K1 在 IBD 的作用,我们使用 DSS 溶液诱导小鼠建立结肠炎模型(图 2A)。通过每天监测小鼠体重及状态,评估 MAP4K1 在结肠炎中的作用和机制。结果发现,与 WT 小鼠相比, *Map4k1*^{-/-} 小鼠体重下降幅度更小(图 2B)、结肠长度更长(图 2C~2D)。HE 染色结果显示, *Map4k1*^{-/-} 小鼠的结直肠组织溃疡数目更少、面积更小,炎性细胞浸润深度较表浅(图 2E),且炎症评分更低(图 2F)。以上结果表明,相较于 WT 小鼠, *Map4k1*^{-/-} 小鼠对 DSS 诱导的结肠炎更不易感。

在结肠炎的发展过程中,病原微生物可能通过入侵受损的肠道屏障,引起炎症信号,进一步激活转录因子,诱发炎症相关细胞因子的产生^[25]。IL-6 是炎症性疾病发展过程中主要的促炎症细胞因子,因此本研究检测了 WT 小鼠和 *Map4k1*^{-/-} 小鼠 *Il6* mRNA 表达水平。结果发现,与 WT 小鼠相比, *Map4k1*^{-/-} 小鼠的结直肠组织中 *Il6* mRNA 表达水平在 DSS 处理后的第 8 d 明显下调(图 3A)。与此同时,与 WT 小鼠相比, *Map4k1*^{-/-} 小鼠的结直肠组织中 *Tnf*、*Il1b*、*Kc*、*Mcp1*、*Cxcr2*、*Ccl4* 等基因 mRNA 表达水平也明显下调(图 3B~3I)。这些结果表明,在 DSS 诱导的结肠炎中, *Map4k1* 敲除抑制包括 IL-6 在内的炎症

相关细胞因子的产生,从而减弱了小鼠的局部炎症。我们还检测了经典炎症信号通路中关键分子的蛋白表达情况。结果显示,相比于 WT 小鼠, *Map4k1*^{-/-} 小鼠结直肠组织中 I κ B 的磷酸化水平受到抑制(图 3J~3K)。综上结果得出,在 DSS 诱导的结肠炎中, *Map4k1*^{-/-} 小鼠的炎症水平低于 WT 小鼠。

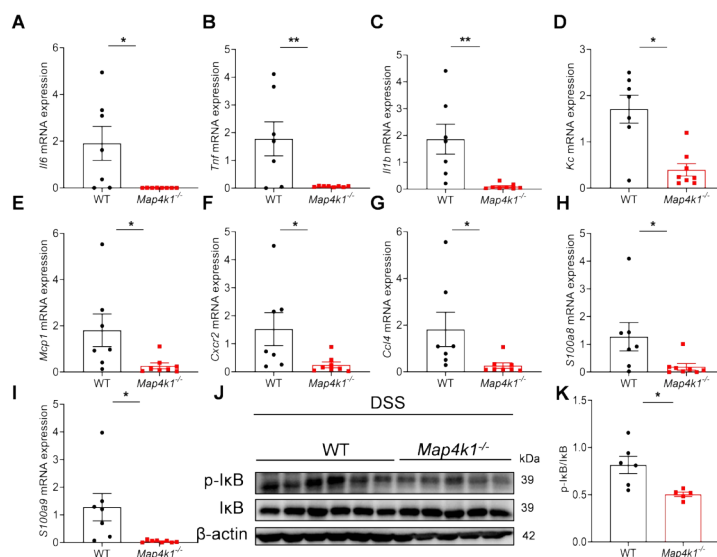
2.3 MAP4K1 可能促使小鼠肠道上皮屏障完整性受损

肠腔和黏膜之间的肠上皮屏障是宿主防御微生物感染的关键^[26-28]。该屏障由完整的肠上皮细胞(Intestinal epithelial cells, IECs)单细胞层及其分泌的黏液蛋白和紧密连接(Tight junction, TJ)蛋白组成,包括 E-cadherin、 β -catenin、Occludin、ZO-1、Desmosomes 和抗菌肽^[29]。研究表明, Occludin 等分子可调节肠道上皮的完整性^[30-31]。本研究为了确认 WT 小鼠与 *Map4k1*^{-/-} 小鼠在结肠炎发展过程中肠道屏障是否发生变化,检测了上皮屏障相关的基因(*Muc2*、*Muc3*、*Muc4*)以及紧密连接相关的基因(*Cdh1*、*Tjp1*、*Ocln*、*Cttnb1* 和 *Desmocollin1* 等)的表达情况。结果显示,与 WT 小鼠相比, *Map4k1*^{-/-} 小鼠结直肠组织中 *Muc2*、*Cdh1* 等基因 mRNA 表达水平明显上调,但其他基因的 mRNA 表达水平无明显变化(图 4A~4H)。随后,我们检测了上皮屏障相关分子蛋白表达水平,与 mRNA 表达变化一致, *Map4k1* 缺失后



A: 结肠炎模型造模示意图; B: 小鼠造模期间的体重变化; C: 小鼠结肠大体观察图(=1 cm); D: 小鼠结肠长度统计图; E: 第8 d远端结肠的 HE 染色的代表图像(=200 μm); F: 第8 d结肠的组织学评分统计图。* $P < 0.01$; *** $P < 0.001$ 。

图2 MAP4K1 促进 DSS 诱导小鼠结肠炎



A: *Il6* mRNA 表达水平; B: *Tnf* mRNA 表达水平; C: *Il1b* mRNA 表达水平; D: *Kc* mRNA 表达水平; E: *Mcp1* mRNA 表达水平; F: *Cxcr2* mRNA 表达水平; G: *Ccl4* mRNA 表达水平; H: *S100a8* mRNA 表达水平; I: *S100a9* mRNA 表达水平; J: 小鼠结肠组织中 IκB 蛋白的磷酸化水平; K: IκB 磷酸化水平的灰度值统计图。* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$ 。

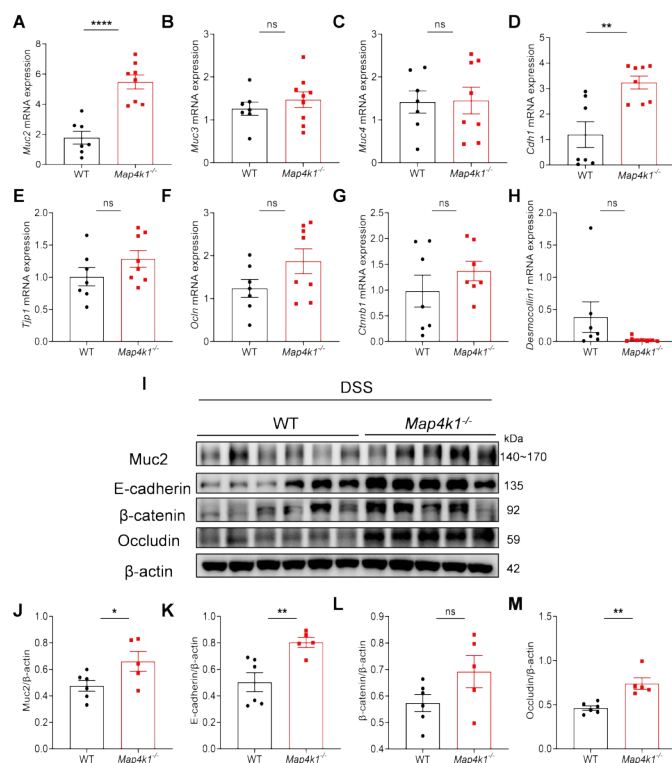
图3 *Map4k1* 缺失对小鼠炎症相关基因表达及 NF-κB 信号通路中 IκB 蛋白表达水平的影响

小鼠结肠组织中 *Muc2*、E-cadherin、 β -catenin、Occludin 蛋白表达明显增加(图4I~4M)。

为了进一步证实 MAP4K1 对肠上皮屏障分子的调控作用。我们培养了保留上皮细胞特性的结肠癌细胞 HCT116 细胞以及正常肠上皮细胞 NCM460 细胞, 将过表达 *Map4k1* 质粒转染至上皮细胞中, 检测 *Muc2*、E-cadherin 等屏障分子的蛋白表达情况。结果显示, 过表达 *Map4k1* 后, *Muc2*、E-cadherin、 β -catenin 以及 Occludin 的蛋白表达水平明显下调(图5A~5B)。该结果表明, MAP4K1 可使肠道上皮

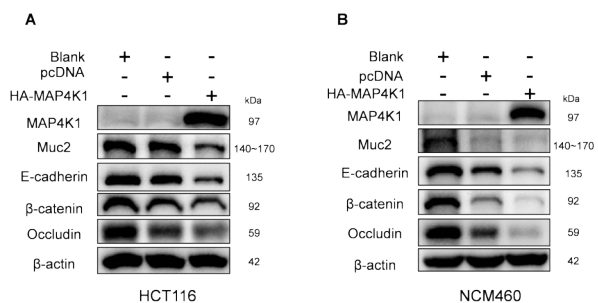
屏障相关分子表达减少, 提示 MAP4K1 可能导致肠上皮屏障完整性受损。

2.4 MAP4K1 可能不直接参与调控肠道免疫细胞的浸润和活化过程 免疫细胞在 IBD 的病理过程中发挥着重要作用^[32]。有研究^[33]表明, 免疫细胞的异常活化会导致肠道免疫屏障受损。基于此, 我们将 DSS 处理后的肠道组织进行 IHC 染色, 并检测巨噬细胞 (Macrophages, MACs)、树突状细胞 (Dendritic cells, DCs)、PMNs 的浸润情况。结果显示, MACs、DCs 与 PMNs 在 WT 与 *Map4k1*^{-/-} 小鼠中的浸润数量



A: *Muc2* mRNA 表达水平; B: *Muc3* mRNA 表达水平; C: *Muc4* mRNA 表达水平; D: *Cdh1* mRNA 表达水平; E: *Tjp1* mRNA 表达水平; F: *Ocln* mRNA 表达水平; G: *Ctnnb1* mRNA 表达水平; H: *Desmocollin1* mRNA 表达水平; I: 小鼠结肠直肠组织中上皮屏障相关蛋白的表达水平; J: *Muc2* 蛋白水平的灰度值统计图; K: *E-cadherin* 蛋白水平的灰度值统计图; L: β -catenin 蛋白水平的灰度值统计图; M: *Occludin* 蛋白水平的灰度值统计图。* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.0001$; ns: 差异无统计学意义。

图4 *Map4k1* 缺失对小鼠肠道屏障相关分子表达的影响



A: 过表达 *Map4k1* 的 HCT116 细胞中上皮屏障相关分子 WB 代表图; B: 过表达 *Map4k1* 的 NCM460 细胞中上皮屏障相关分子 WB 代表图。Blank: 空白对照组; pcDNA: 空载质粒对照组; HA-MAP4K1: *Map4k1* 过表达组。

图5 过表达 *Map4k1* 对肠上皮细胞屏障相关分子的影响

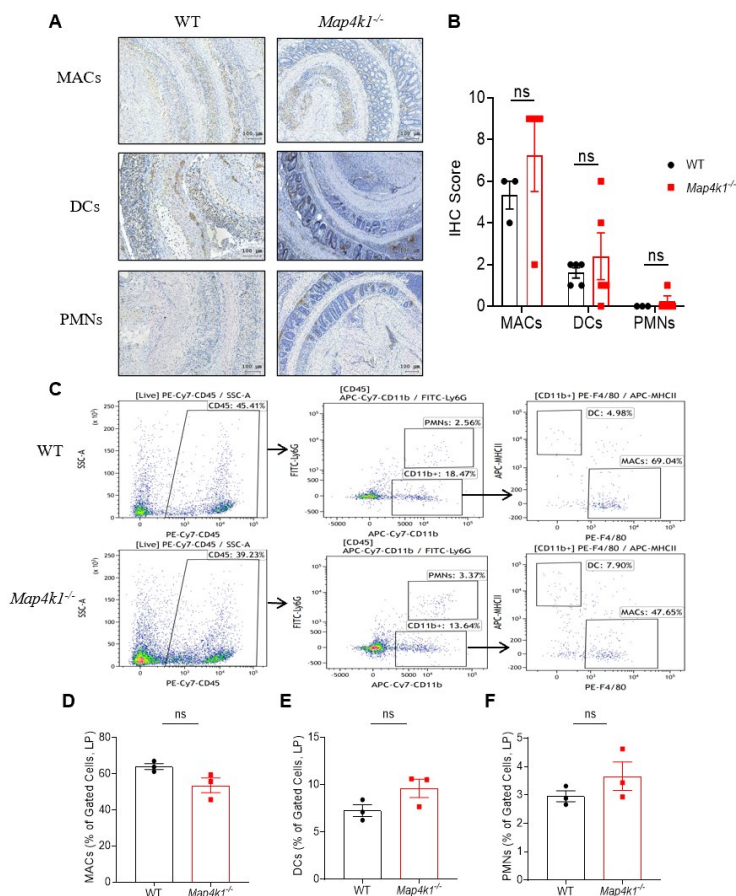
无明显变化(图 6A ~ 6B)。为了进一步验证其浸润情况,我们使用 DSS 处理小鼠,并从肠道中分离其固有层细胞,并使用 FCM 检测 MACs、DCs 与 PMNs 的浸润情况。与 IHC 结果一致,MACs、DCs 与 PMNs 在 WT 与 *Map4k1*^{-/-} 小鼠中的浸润情况无明显变化(图 6C ~ 6F)。

为了探讨 MAP4K1 是否调控免疫细胞的活化

过程,给予 BMDM、BMDC LPS 刺激后检测炎症相关的细胞因子,结果发现 WT 与 *Map4k1*^{-/-} 小鼠来源的 BMDM 及 BMDC 经 LPS 刺激后炎症反应差异无统计学意义。因此,MAP4K1 可能不影响免疫细胞的活化与浸润(图 7A ~ 7F)。

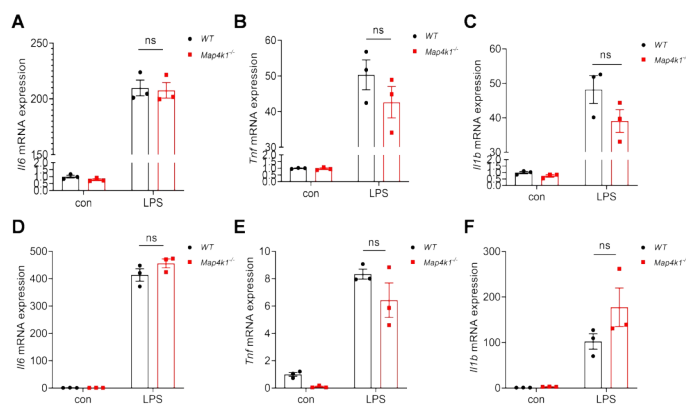
2.5 MAP4K1 可能促进肠道上皮细胞凋亡 在 IBD 的发病过程中,IECs 可能经历多种细胞程序性死亡方式,包括细胞凋亡、坏死性凋亡和细胞焦亡。这些细胞死亡形式之间的相互作用和信号通路的交叉,进一步加剧了肠上皮屏障的损伤^[26,34-36]。为了探究经 DSS 诱导后,MAP4K1 是否参与调控肠道上皮细胞的程序性死亡过程。本研究检测了小鼠结肠直肠组织中 Gpx4、Gsdmd、MLKL 等分子的活化水平。结果显示,与 WT 小鼠相比,*Map4k1*^{-/-} 小鼠 Gpx4、Gsdmd、MLKL 等分子的活化水平差异无统计学意义(图 8A ~ 8F)。这表明 MAP4K1 对肠道上皮屏障的损伤作用可能不涉及细胞铁死亡、焦亡、坏死或自噬。

随后,我们检测了 Bcl-2、Bax 等凋亡相关分子的蛋白表达水平,结果发现与 WT 小鼠相比,*Map4k1*^{-/-}



A:小鼠结肠组织IHC染色情况;B:IHC染色评分;C:FCM检测小鼠结肠固有层细胞免疫细胞的浸润情况;D:结肠固有层中MACs相对数量的统计结果;E:结肠固有层中DCs相对数量的统计结果;F:结肠固有层中PMNs相对数量的统计结果。ns:差异无统计学意义。

图6 Map4k1 缺失对小鼠结肠组织免疫细胞浸润的影响



A:BMDM中Il6 mRNA表达水平;B:BMDM中Tnf mRNA表达水平;C:BMDM中Il1b mRNA表达水平;D:BMDC中Il6 mRNA表达水平;E:BMDC中Tnf mRNA表达水平;F:BMDC中Il1b mRNA表达水平。con:空白对照组;LPS:LPS刺激组;ns:差异无统计学意义。

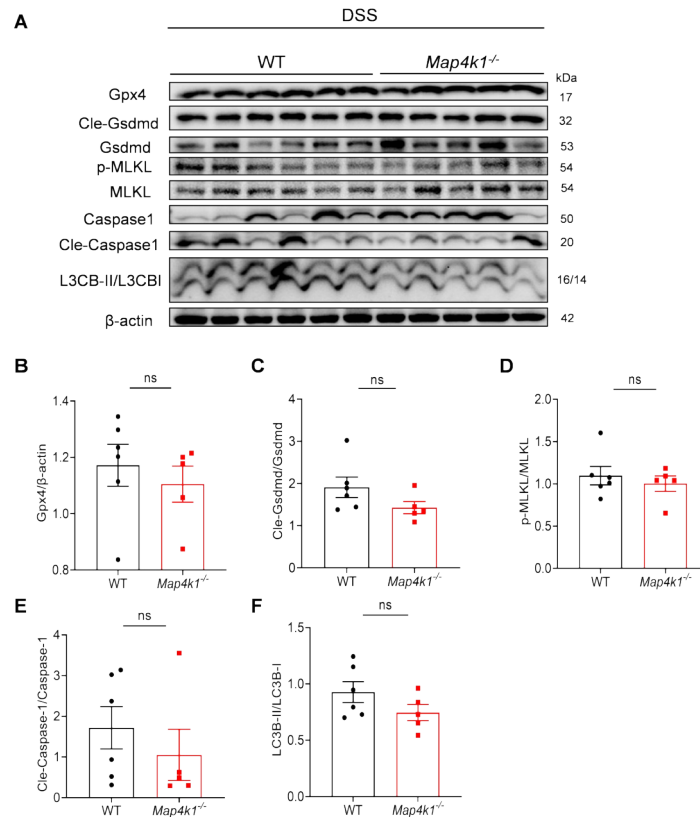
图7 Map4k1 缺失对小鼠原代巨噬细胞及树突状细胞活化的影响

小鼠肠道细胞Bcl-2/Bax比值显著增加(图9A~9E)。

为了进一步验证MAP4K1对肠上皮细胞凋亡的影响。我们进行了体外实验,将过表达Map4k1质粒转染至HCT116细胞以及NCM460细胞中,随后

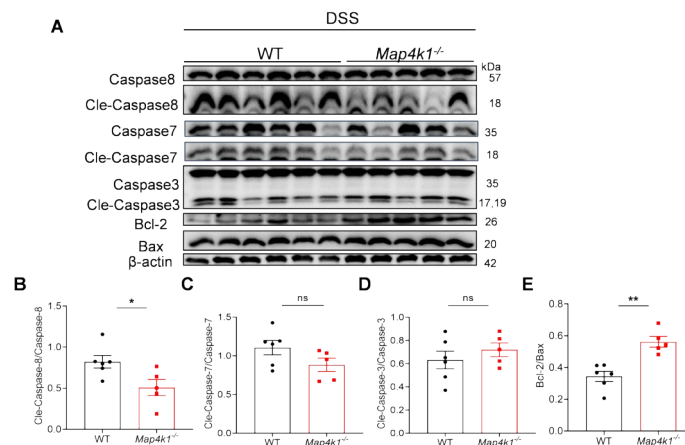
使用FCM检测细胞凋亡情况,并检测Bcl-2与Bax的蛋白表达情况。结果显示,与体内结肠组织观察到的结果一致,过表达Map4k1显著增加了细胞凋亡率(图10A~10D),并且降低了Bcl-2/Bax比值

(图 10E ~ 10F)。综上所述,这些结果表明 MAP4K1 可能通过促进肠上皮细胞凋亡,进而促进 IBD 发展。



A:小鼠结肠直肠组织中铁死亡、焦亡、坏死、自噬相关蛋白的表达水平;B:Gpx4 蛋白灰度值统计图;C: Cle-Gsdmd 蛋白灰度值统计图;D: MLKL 蛋白磷酸化水平灰度值统计图;E: Cle-Caspase-1 蛋白灰度值统计图;F: LC3B 蛋白灰度值统计图。ns: 差异无统计学意义。

图 8 *Map4k1* 缺失对小鼠肠道细胞铁死亡、焦亡、坏死及自噬的影响



A:小鼠结肠直肠组织中凋亡相关蛋白的表达水平;B: Cle-Caspase8 蛋白灰度值统计图;C: Cle-Caspase7 蛋白灰度值统计图;D: Cle-Caspase3 蛋白灰度值统计图;E: Bcl-2/Bax 蛋白灰度值统计图。

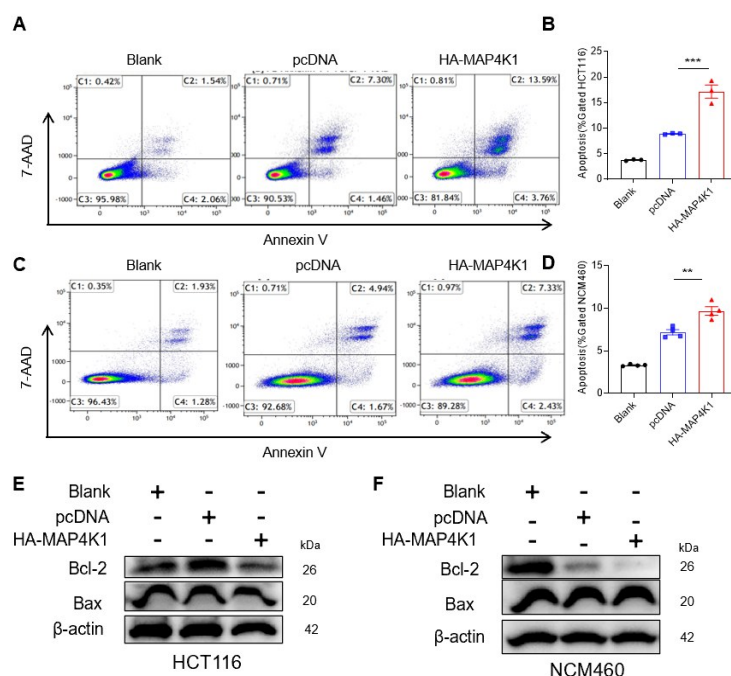
图 9 *Map4k1* 缺失对小鼠肠道组织细胞凋亡相关蛋白表达的调控作用

2.6 MAP4K1 促进 p53 表达 研究发现, p53 在细胞凋亡中发挥着关键作用, p53 可与 Bcl-2 结合, 占据其 BH3 疏水口袋, 阻止促凋亡蛋白如 Bax 与 Bcl-2 的结合, 从而促进细胞凋亡^[37-39]。基于这一机制, 我们

检测了 DSS 处理后的小鼠结肠直肠组织中 p53 蛋白表达水平。结果显示, 与 WT 小鼠相比, *Map4k1*^{-/-} 小鼠 p53 表达水平显著降低(图 11A ~ 11B)。为了进一步探究 MAP4K1 对 p53 表达的影响, 我们将过表达

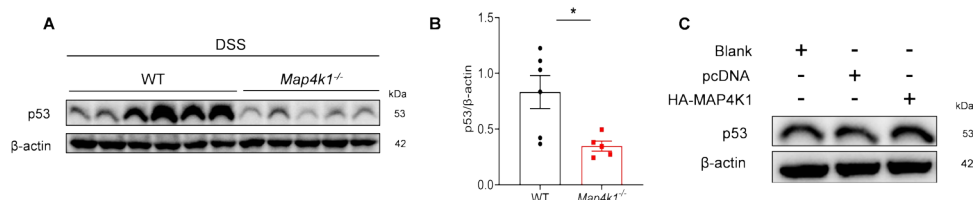
Map4k1 的质粒转染至 HCT116 上皮细胞,并检测 p53 蛋白表达。结果与体内观察到的结肠组织结果一致,过表达 *Map4k1* 后 p53 表达水平升高

(图 11C)。综上所述,MAP4K1 可增强 p53 表达,进而促进 IBD 发展。



A: 过表达 *Map4k1* 后 HCT116 细胞的凋亡水平;B: HCT116 细胞凋亡比例统计情况;C: FCM 检测过表达 *Map4k1* 后 NCM460 细胞凋亡情况;D: NCM460 细胞凋亡比例统计情况;E: WB 检测过表达 *Map4k1* 后 HCT116 细胞 Bcl-2 与 Bax 蛋白表达情况;F: WB 检测过表达 *Map4k1* 后 NCM460 细胞 Bcl-2 与 Bax 蛋白表达情况。Blank: 空白对照组;pcDNA: 空载质粒对照组;HA-MAP4K1: *Map4k1* 过表达组; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$ 。

图 10 过表达 *Map4k1* 对上皮细胞凋亡的诱导作用



A: 小鼠结肠组织中 p53 蛋白的表达水平;B: p53 蛋白灰度值统计图;C: HCT116 细胞转染过表达 *Map4k1* 质粒 48 h, 检测 p53 蛋白表达水平。Blank: 空白对照组;pcDNA: 空载质粒对照组;HA-MAP4K1: *Map4k1* 过表达组; * $P < 0.05$ 。

图 11 *Map4k1* 缺失对 p53 蛋白表达水平的影响

3 讨论

IBD 是一种长期反复发作、涉及胃肠道多个部位的炎症性疾病。其中,UC 是最主要的 IBD 类型,其病变通常始于直肠,并向大肠近端扩展,主要局限于黏膜层。目前,常见的临床药物包括水杨酸类、糖皮质激素类以及免疫抑制剂类等,但这些药物在长期或大剂量使用时往往伴随着较多不良反应,治疗过程耗时且经济负担较重,导致部分患者难以坚持治疗^[40-42]。因此理解 IBD 的发病机制,找到新的

治疗策略来改善患者预后是至关重要的。

本研究揭示了 MAP4K1 在 IBD 中的关键作用及其分子机制。通过分析 GEO 数据库中的数据,发现 IBD 患者肠道组织中 *Map4k1* 基因的表达水平显著高于健康人群,且差异主要集中在直肠组织。这一结果提示 MAP4K1 可能在 IBD 的发生发展中发挥重要作用。进一步利用 DSS 诱导结肠炎的小鼠模型进行研究,发现与 WT 小鼠相比, *Map4k1*^{-/-} 小鼠在 DSS 诱导的结肠炎中体重下降幅度更小,结肠长度更长,组织损伤和炎性细胞浸润也更少,表明

Map4k1^{-/-}小鼠对 DSS 诱导的结肠炎更不易感。在炎症因子方面,*Map4k1*^{-/-}小鼠结直肠组织中 *Il6*、*Tnf*、*Kc* 等炎症相关细胞因子基因 mRNA 表达明显下调,同时经典炎症信号通路中 IκB 的磷酸化水平也受到抑制。这进一步证实了敲除 *Map4k1* 可以抑制炎症相关细胞因子的产生,从而减轻局部和全身的炎症反应。这提示 MAP4K1 可能通过调控炎症因子的表达和炎症信号通路的激活,在 IBD 的炎症过程中发挥促进作用。这一发现与先前研究揭示 MAP4K1 具有负向调控作用,能够平衡前列腺素 E2(Prostaglandin E2, PGE2)诱导的 *Fos* 基因转录,从而防止炎症反应过度激活^[43]这一作用恰好相反。可能原因在于 MAP4K1 在不同生理或病理状态下发挥不同功能。在某些情况下,MAP4K1 可能通过负向调控作用来平衡炎症反应,而在 IBD 背景下,MAP4K1 可能通过促进炎症因子的表达和激活炎症信号通路来加剧炎症过程。这种差异可能是由于不同研究中所关注的炎症类型、MAP4K1 的作用细胞类型、信号通路的复杂交互作用,或是 MAP4K1 在不同组织中的表达水平和活性差异所导致的。这也提示 MAP4K1 在炎症反应中的作用具有复杂性和多样性,其功能取决于特定的炎症环境。因此,在考虑 MAP4K1 作为 IBD 治疗靶点时,需要更全面理解其在不同炎症状态下的具体作用机制。此外,这也可能意味着在开发针对 MAP4K1 药物时,需要考虑其在不同炎症性疾病中的潜在作用,以确保治疗的安全性和有效性。

肠上皮屏障功能障碍是 IBD 发病的核心环节^[26-28]。本研究检测了与肠道屏障相关的基因和蛋白表达,结果显示 *Map4k1*^{-/-}小鼠结直肠组织中 *Muc2*、*Cdh1* 等基因 mRNA 表达上调,且 *Muc2*、E-cadherin、Occludin 蛋白表达水平也明显增高,表明 *Map4k1* 缺失可以增强肠道上皮屏障的完整性。本研究证实 MAP4K1 通过抑制 E-cadherin 等紧密连接蛋白的表达,破坏屏障完整性。这一发现与既往研究显示 DLX6-AS1 通过 FUS 正向调控 MAP4K1 表达,促进胃癌细胞 EMT 过程的机制一致^[44],虽然 MAP4K1 在 IBD 和胃癌中的作用机制相似,但其对疾病进程的影响可能因组织类型和环境而异。提示在开发针对 MAP4K1 的治疗策略时,需要考虑其在不同疾病中的特异性作用。

本研究揭示了 MAP4K1 通过促进肠上皮细胞凋亡参与 IBD 的机制。我们检测了与细胞铁死亡、焦亡、坏死性凋亡相关的分子,结果显示 *Map4k1*^{-/-}小鼠

中 Gpx4、Gsdmd、MLKL 等分子的活化水平与 WT 小鼠相比差异无统计学意义,表明 MAP4K1 与这些细胞死亡方式无关。然而,*Map4k1*^{-/-}小鼠中抗凋亡蛋白 Bcl-2 表达上调,促凋亡蛋白 Bax 下调。且体外实验中,过表达 *Map4k1* 的结肠癌上皮细胞显示 *Muc2*、E-adherin、Bcl-2、Bax 表达水平与体内相似,证实 MAP4K1 可能通过促进肠上皮细胞凋亡,从而促进 IBD 发展。这一发现与 MAP4K1 在胰腺癌中作为肿瘤抑制因子的作用呈现出相反的功能特征^[45],进一步提示 MAP4K1 的功能可能具有高度的组织和疾病特异性。在不同的生理或病理环境中,MAP4K1 可能通过不同的信号通路和分子机制发挥作用。进一步机制研究表明,*Map4k1* 缺失导致 p53 蛋白表达显著增加,提示其可能通过抑制 p53 稳定性或转录活性促进凋亡。p53 作为经典凋亡调控因子,可通过激活 *Bax*、*Puma* 等促凋亡基因或直接与 Bcl-2 家族蛋白相互作用诱导细胞死亡^[37-39]。然而,MAP4K1 如何调控 p53 仍需深入探究。

尽管已知 MAP4K1 在免疫细胞(如 MACs、DCs)中发挥调控作用^[18,46-47],本研究意外发现 *Map4k1* 缺失未改变巨噬细胞、DC 或中性粒细胞的浸润水平,且体外 BMDM/BMDC 的炎症应答差异无统计学意义,表明 MAP4K1 可能不影响免疫细胞的活化与浸润。这提示 MAP4K1 在 IBD 中的作用可能主要不是通过直接调控免疫细胞来实现,而是通过其他途径,如影响肠道屏障和炎症因子等发挥作用。

尽管本研究系统阐明了 MAP4K1 在 IBD 中的功能,仍存在以下局限性:(1)MAP4K1 调控 p53 的具体分子机制尚未完全阐明,有待在未来研究中通过进一步的机制性实验加以验证;(2)MAP4K1 抑制剂的开发及在 IBD 治疗中的应用前景尚待探索。未来研究可聚焦以下方向:在机制扩展方面,可利用磷酸化蛋白质组学和基因编辑技术(如 CRISPR 筛选)来揭示 MAP4K1 调控 p53 的具体机制,深入解析 MAP4K1 与 p53 等信号通路的交互网络,以更全面理解其在 IBD 发生发展中的作用。在临床转化方面,评估现有 MAP4K1 抑制剂(如 PF-07265028)在 IBD 模型中的疗效^[48],并开发肠道靶向递送系统,以降低系统性毒性,提高治疗的安全性和有效性。在精准医学方面,基于 MAP4K1 表达水平对 IBD 患者进行分层,指导个性化治疗策略,为患者提供更具针对性的治疗方案。

综上所述,本研究确立了 MAP4K1 作为 IBD 的新型治疗靶点,其通过促进上皮细胞凋亡,破坏

肠上皮屏障,从而驱动疾病进展。这一发现不仅拓展了人们对MAP4K1的生物学功能认知,也为IBD的精准治疗提供了新思路。未来结合机制解析和药物开发,靶向MAP4K1可能成为缓解IBD病理进程的有效策略。

所有作者均声明不存在利益冲突关系。

参考文献:

- [1] Windsor J W, Kaplan G G. Evolving epidemiology of IBD [J]. *Curr Gastroenterol Rep*, 2019, 21(8): 40.
- [2] Dharni K, Singh A, Sharma S, et al. Trends of inflammatory bowel disease from the Global Burden of Disease Study (1990–2019)[J]. *Indian J Gastroenterol*, 2024, 43(1): 188–198.
- [3] Hraes L, Windsor J W, Gorospe J, et al. Global evolution of inflammatory bowel disease across epidemiologic stages[J]. *Nature*, 2025, 642(8067): 458–466.
- [4] Cho J H. The genetics and immunopathogenesis of inflammatory bowel disease [J]. *Nat Rev Immunol*, 2008, 8(6): 458–466.
- [5] Fiocchi C. Inflammatory bowel disease: etiology and pathogenesis [J]. *Gastroenterology*, 1998, 115 (1) : 182–205.
- [6] Ungaro R, Mehandru S, Allen P B, et al. Ulcerative colitis [J]. *Lancet*, 2017,389(10080):1756–1770.
- [7] Nowarski R, Jackson R, Gagliani N, et al. Epithelial IL-18 equilibrium controls barrier function in colitis[J]. *Cell*, 2015, 163(6): 1444–1456.
- [8] Hu M C, Qiu W R, Wang X, et al. Human HPK1, a novel human hematopoietic progenitor kinase that activates the JNK/SAPK kinase cascade[J]. *Genes Dev*, 1996, 10 (18): 2251–2264.
- [9] Wang Y, Zhang K, Georgiev P, et al. Pharmacological inhibition of hematopoietic progenitor kinase 1 positively regulates T-cell function[J]. *PLoS One*, 2020, 15(12): e0243145.
- [10] Brenner D, Golks A, Kiefer F, et al. Activation or suppression of NFkappaB by HPK1 determines sensitivity to activation-induced cell death[J]. *EMBO J*, 2005, 24 (24): 4279–4290.
- [11] Chen Y R, Meyer C F, Ahmed B, et al. Caspase-mediated cleavage and functional changes of hematopoietic progenitor kinase 1 (HPK1)[J]. *Oncogene*, 1999, 18(51): 7370–7377.
- [12] Wang X, Li J P, Kuo H K, et al. Down-regulation of B cell receptor signaling by hematopoietic progenitor kinase 1 (HPK1) -mediated phosphorylation and ubiquitination of activated B cell linker protein (BLNK) [J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(14): 11037–11048.
- [13] Wang X, Li J P, Chiu L L, et al. Attenuation of T cell receptor signaling by serine phosphorylation-mediated lysine 30 ubiquitination of SLP-76 protein [J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(41): 34091–34100.
- [14] Jakob S M, Pick R, Brechtefeld D, et al. Hematopoietic progenitor kinase 1 (HPK1) is required for LFA-1-mediated neutrophil recruitment during the acute inflammatory response [J]. *Blood*, 2013, 121 (20) : 4184–4194.
- [15] He T S, Huang J, Chen T, et al. The kinase MAP4K1 inhibits cytosolic RNA-induced antiviral signaling by promoting proteasomal degradation of TBK1/IKKε [J]. *Microbiol Spectr*, 2021, 9(3): e0145821.
- [16] Zhang Q, Long H, Liao J, et al. Inhibited expression of hematopoietic progenitor kinase 1 associated with loss of jumonji domain containing 3 promoter binding contributes to autoimmunity in systemic lupus erythematosus[J]. *J Autoimmun*, 2011, 37(3): 180–189.
- [17] Luo S, Xie Y, Huang J, et al. Decreased jumonji domain-containing 3 at the promoter downregulates hematopoietic progenitor kinase 1 expression and cytoactivity of T follicular helper cells from systemic lupus erythematosus patients [J]. *J Immunol Res*, 2022, 2022: 3690892.
- [18] Zhang H, Xie Y, Huang J, et al. Reduced expression of hematopoietic progenitor kinase 1 in T follicular helper cells causes autoimmunity of systemic lupus erythematosus[J]. *Lupus*, 2022, 31(1): 28–38.
- [19] Sun J M, Fan H Y, Zhu Y, et al. Glioblastoma cellular MAP4K1 facilitates tumor growth and disrupts T effector cell infiltration [J]. *Life Sci Alliance*, 2023, 6(12) : e202301966.
- [20] Song X, Akasaka H, Wang H, et al. Hematopoietic progenitor kinase 1 down-regulates the oncogenic receptor tyrosine kinase AXL in pancreatic cancer[J]. *J Biol Chem*, 2020, 295(8): 2348–2358.
- [21] Wang H, Moniruzzaman R, Li L, et al. Hematopoietic progenitor kinase 1 inhibits the development and progression of pancreatic intraepithelial neoplasia[J]. *J Clin Invest*, 2023, 133(12): e163873.
- [22] Yang H S, Matthews C P, Clair T, et al. Tumorigenesis suppressor Pcdcd4 down-regulates mitogen-activated protein kinase kinase kinase 1 expression to suppress colon carcinoma cell invasion [J]. *Mol Cell Biol*, 2006, 26(4): 1297–1306.
- [23] Wang Q, Zhang Y, Yang H S. Pcdcd4 knockdown up-regulates MAP4K1 expression and activation of AP-1

- dependent transcription through c-Myc [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2012, 1823(10): 1807–1814.
- [24] Zhao X, Li L, Yuan S, et al. SPIB acts as a tumor suppressor by activating the NF κ B and JNK signaling pathways through MAP4K1 in colorectal cancer cells [J]. *Cell Signal*, 2021, 88: 110148.
- [25] Platanitis E, Decker T. Regulatory networks involving STATs, IRFs, and NF κ B in inflammation [J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 2542.
- [26] Zhao C, Lin S. PANoptosis in intestinal epithelium: its significance in inflammatory bowel disease and a potential novel therapeutic target for natural products [J]. *Front Immunol*, 2025, 15: 1507065.
- [27] Ke P, Shao B Z, Xu Z Q, et al. Intestinal autophagy and its pharmacological control in inflammatory bowel disease [J]. *Front Immunol*, 2017, 7: 695.
- [28] Roy U, Gálvez E J C, Iljazovic A, et al. Distinct microbial communities trigger colitis development upon intestinal barrier damage *via* innate or adaptive immune cells [J]. *Cell Rep*, 2017, 21(4): 994–1008.
- [29] Li L, Zhou C, Li T, et al. Interleukin-28A maintains the intestinal epithelial barrier function through regulation of claudin-1 [J]. *Ann Transl Med*, 2021, 9(5): 365.
- [30] Lazear H M, Nice T J, Diamond M S. Interferon- λ : immune functions at barrier surfaces and beyond [J]. *Immunity*, 2015, 43(1): 15–28.
- [31] Ahn D, Wickersham M, Riquelme S, et al. The effects of IFN- λ on epithelial barrier function contribute to *Klebsiella pneumoniae* ST258 pneumonia [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2019, 60(2): 158–166.
- [32] Hou Q, Huang J, Ayansola H, et al. Intestinal stem cells and immune cell relationships: potential therapeutic targets for inflammatory bowel diseases [J]. *Front Immunol*, 2021, 11: 623691.
- [33] Brazil J C, Louis N A, Parkos C A. The role of polymorphonuclear leukocyte trafficking in the perpetuation of inflammation during inflammatory bowel disease [J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2013, 19(7): 1556–1565.
- [34] Chen K W, Demarco B, Broz P. Beyond inflammasomes: emerging function of gasdermins during apoptosis and NETosis [J]. *EMBO J*, 2020, 39(2): e103397.
- [35] Qian S E, Long Y, Tan G, et al. Programmed cell death: molecular mechanisms, biological functions, diseases, and therapeutic targets [J]. *MedComm*, 2024, 5(12): e70024.
- [36] Patankar J V, Becker C. Cell death in the gut epithelium and implications for chronic inflammation [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2020, 17(9): 543–556.
- [37] Wei H, Wang H, Wang G, et al. Structures of p53/BCL-2 complex suggest a mechanism for p53 to antagonize BCL-2 activity [J]. *Nat Commun*, 2023, 14(1): 4300.
- [38] Aubrey B J, Kelly G L, Janic A, et al. How does p53 induce apoptosis and how does this relate to p53-mediated tumour suppression? [J]. *Cell Death Differ*, 2018, 25(1): 104–113.
- [39] Gibellini L, Moro L. Programmed cell death in health and disease [J]. *Cells*, 2021, 10(7): 1765.
- [40] Pithadia A B, Jain S. Treatment of inflammatory bowel disease (IBD) [J]. *Pharmacol Rep*, 2011, 63(3): 629–642.
- [41] Elhag D A, Kumar M, Saadaoui M, et al. Inflammatory bowel disease treatments and predictive biomarkers of therapeutic response [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(13): 6966.
- [42] Luo H, Cao G, Luo C, et al. Emerging pharmacotherapy for inflammatory bowel diseases [J]. *Pharmacol Res*, 2022, 178: 106146.
- [43] Sawasdikosol S, Russo K M, Burakoff S J. Hematopoietic progenitor kinase 1 (HPK1) negatively regulates prostaglandin E2-induced fos gene transcription [J]. *Blood*, 2003, 101(9): 3687–3689.
- [44] Wu Q, Ma J, Meng W, et al. DLX6-AS1 promotes cell proliferation, migration and EMT of gastric cancer through FUS-regulated MAP4K1 [J]. *Cancer Biol Ther*, 2020, 21(1): 17–25.
- [45] Wang H, Song X, Logsdon C, et al. Proteasome-mediated degradation and functions of hematopoietic progenitor kinase 1 in pancreatic cancer [J]. *Cancer Res*, 2009, 69(3): 1063–1070.
- [46] Sawasdikosol S, Zha R, Fisher T S, et al. HPK1 influences regulatory T cell functions [J]. *Immunohorizons*, 2020, 4(7): 382–391.
- [47] Alzabin S, Bhardwaj N, Kiefer F, et al. Hematopoietic progenitor kinase 1 is a negative regulator of dendritic cell activation [J]. *J Immunol*, 2009, 182(10): 6187–6194.
- [48] Gallego R A, Cho-Schultz S, Del Bel M, et al. Discovery of PF-07265028, a selective small molecule inhibitor of hematopoietic progenitor kinase 1 (HPK1) for the treatment of cancer [J]. *J Med Chem*, 2024, 67(24): 22002–22038.

(收稿:2025-07-30)(修回:2025-11-17)

(责任编辑:何明)