

轮状病毒通过 STAT3 磷酸化对肠道炎症的影响及机制研究

张晓燕¹, 章孝成¹, 丁锐², 何茂章¹, 黄升海^{1,2}

摘要 目的 探讨轮状病毒(RV)感染 BALB/c 乳鼠后是否通过肠内白细胞介素-22(IL-22)水平变化,促使信号传导转录激活因子3(STAT3)磷酸化,调节肠道炎症反应,为 RV 的致病机制和有效防治提供理论依据。方法 以 RV 灌胃感染 7 日龄 BALB/c 乳鼠,实验分为 5 组,分别为正常对照组、PBS 对照组、RV 感染组、RV + STAT3 抑制剂组、STAT3 抑制剂组。五组分别在感染后的 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 d 各处死 5 只乳鼠并收集肠组织标本。酶联免疫吸附试验(ELISA)检测肠黏膜匀浆液 IL-22 含量的变化情况,免疫印迹法(Western blot)检测各组不同时间点 STAT3、pSTAT3 和 Reg III- γ 蛋白水平的表达变化。结果 RV 感染后肠组织表现出明显的炎症反应,并且肠道内 IL-22 水平随感染时间延长逐渐上升,在感染第 4 天达最大值,pSTAT3 和 Reg III- γ 蛋白水平呈现出与 IL-22 类似的变化趋势,而 STAT3 蛋白水平呈现出相反的变化趋势,在感染后第 4 天表达水平最低。结论 RV 感染机体后可活化 IL-22/pSTAT3/Reg III- γ 信号通路,调节肠道炎症的发生与发展。

关键词 轮状病毒; IL-22; pSTAT3; Reg III- γ ; 肠道炎症

中图分类号 R 373.1

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2021)02-0294-06

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2021.02.023

轮状病毒(rotavirus, RV)是呼肠孤病毒科的一组分节段的双链 RNA 病毒,也是引起全球范围内婴幼儿腹泻的最常见病原体之一^[1]。RV 通过粪口途径传播,主要感染的部位是小肠上部或小肠上皮细胞,严重者可累及整个小肠,其主要在绒毛顶端柱状上皮细胞内复制^[2]。肠道炎症近年来备受关注,白细胞介素-22(interleukin-22, IL-22)在肠道炎症的发生和发展中表现出双面性。研究表明,在小肠的十二指肠段和回肠的隐窝处有一类特化的肠道上皮细

胞为潘氏细胞(Paneth),一方面它为肠道上皮干细胞提供干细胞壁龛,另一方面它会分泌抗菌肽 Reg III- γ 进入肠道黏液屏障,调节肠道炎症,而信号传导转录激活因子3(STAT3)的磷酸化是 Reg III- γ 发挥作用的重要因素^[3]。研究还发现,肠道上皮细胞表面存在 IL-22 受体,IL-22 与其结合后可以激活 STAT3^[4]。因此该研究采用 RV 灌胃感染 7 日龄 BALB/c 乳鼠,运用 Western blot、ELISA 检测相关蛋白 STAT3、pSTAT3、Reg III- γ 和 IL-22 的表达情况,探讨 RV 通过 STAT3 磷酸化对肠道炎症的影响及其具体机制。

1 材料与方法

1.1 细胞株与病毒株 恒河猴胚胎肾细胞 MA104 细胞株,轮状病毒 RV VR2018 病毒株均购自中科院武汉病毒研究所,本课题组自行增殖、保存。病毒复苏后在 MA104 细胞上进行增殖,经测定 RV 病毒的 TCID₅₀ 为 $10^{-4.51}$ /0.1 ml。

1.2 实验动物 SPF 级 BALB/c 小鼠 36 只,7~8 周龄,其中 24 只雄鼠、12 只雌鼠,由安徽省实验动物中心提供,饲养于独立送风隔离笼具系统内,该系统由安徽医科大学基础医学院动物房提供,等级为 P2 级。待雌雄鼠自行配种生产乳鼠,随机选取 250 只 7 日龄 BALB/c 乳鼠,体质量 3.5~4.0 g,用于实验。

1.3 动物模型建立与实验分组 将自行配种生产的 SPF 级 7 日龄 BALB/c 乳鼠随机分成 5 组,每组 50 只,分别为: (1) 正常对照组: 不经任何处理; (2) PBS 对照组: 无菌 200 μ l 磷酸盐缓冲液(PBS)乳鼠灌胃; (3) RV 感染组: RV(TCID₅₀ 为 $10^{-4.51}$ /0.1 ml) 100 μ l 灌胃感染乳鼠; (4) RV + STAT3 抑制剂组: STAT3 浓度为 1.5×10^{-8} mg/ml,在 RV 感染 18 h 后 100 μ l 灌胃感染乳鼠且每间隔 18 h 灌胃一次,直至感染的第 10 天结束; (5) STAT3 抑制剂组: 每间隔 18 h 用 100 μ l STAT3 抑制剂对乳鼠进行灌胃,浓度同上,连续灌胃 10 d。5 组分别在感染后的第 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 天各处死 5 只小鼠并收集肠组织标本。预实验分别选用 0.75×10^{-8} 、 1.5×10^{-8} 、3

2020-09-10 接收

基金项目: 安徽省转化医学研究院科研基金(编号: 2017zhxy26); 安徽高校学科(专业)拔尖人才学术资助项目(编号: gxbjZD09)

作者单位: 安徽医科大学¹微生物学教研室、²生命科学学院,合肥 230032

作者简介: 张晓燕,女,硕士研究生;

黄升海,男,教授,硕士生导师,责任作者, E-mail: huang-shh68@aliyun.com

$\times 10^{-8}$ mg/ml 三种不同浓度 STAT3 抑制剂灌胃感染乳鼠,通过 Western blot 方法检测乳鼠肠组织中 pSTAT3 与 STAT3 蛋白的表达情况,结果表明,后两种浓度均能显著抑制 STAT3 的磷酸化即 pSTAT3 蛋白表达的下降。

1.4 主要试剂 DMEM 培养基购自美国 Gibco 公司;小牛血清购自芜湖天明生物技术有限公司;二甲亚砜购自美国 biosharp 公司;蛋白印迹用 ployvinylidene fluoride 膜购自美国 biosharp 公司;蛋白凝胶用标记 Marker 购自上海 Sangon 生物工程技术和服务公司;内参鼠抗 β -actin 蛋白抗体购自武汉 Elabscience 生物科技有限公司;兔抗 Anti-REG3G 蛋白抗体购自 Santa Cruz Biotechnology 公司;兔抗 STAT3 蛋白抗体购自 Santa Cruz Biotechnology 公司;兔抗 pSTAT3 蛋白抗体购自 Santa Cruz Biotechnology 公司;鼠 IL-22 高灵敏联检测定量试剂盒购自深圳欣博盛生物科技有限公司。

1.5 样本的收集与检测 病毒灌胃后每日处死乳鼠,在生物安全柜中无菌取乳鼠小肠组织,通过 HE 染色观察乳鼠小肠组织病理变化;ELISA 检测肠黏膜匀浆液 IL-22 含量的变化情况;Western blot 检测各组不同时间点 STAT3、pSTAT3 和 Reg III- γ 蛋白水平的表达变化。

1.6 统计学处理 采用 SPSS 22.0 统计软件进行数据分析,各组实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,实验数据均数通过 one way ANOVA 即单因素方差分析, $P < 0.05$ 示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 乳鼠小肠组织病理学结果

2.1.1 各组乳鼠小肠组织病理学结果 取乳鼠小肠组织做病理切片,经 HE 染色观察结果显示:正常对照组(图 1A)和 PBS 组结果基本没有差别,都可见清晰的小肠组织黏膜层、黏膜下层、肌层、浆膜层 4 层结构,细胞胞质致密,小肠绒毛排列整齐,绒毛外单层柱状细胞排列整齐。实验组即 RV 感染组(图 1B)、RV + STAT3 抑制剂组(图 1C)、STAT3 抑制剂组(图 1D)出现明显的病变。RV 感染组:黏膜层、黏膜下层、肌层、浆膜层 4 层结构出现断裂,组织细胞出现空泡,为细胞水肿;细胞杂乱伴有空隙,提示有炎症细胞浸润;小肠绒毛断裂,绒毛长度变短,绒毛上皮细胞疏松,与黏膜层分离,再次提示水肿;小肠上皮细胞刷状缘疏松,紫色深染的细胞核团聚的现象;小肠绒毛内有深染的红色,提示血管充血扩

张,有出血的可能。RV + STAT3 抑制剂组和 STAT3 抑制剂组也出现炎症细胞浸润、水肿,小肠绒毛部分断裂的现象,与 RV 感染组小肠绒毛相比受损程度均较低,未出现小肠绒毛与黏膜层分离的现象,但其水肿情况更为突出,小肠绒毛上皮细胞刷状缘排列与 RV 感染组相比较为规整。感染组虽然都能出现病变,但 RV 感染组与 RV + STAT3 抑制剂组、STAT3 抑制剂组比较,主要小肠组织病变部位有稍许差别,提示损伤机制不一样,结果见图 1。

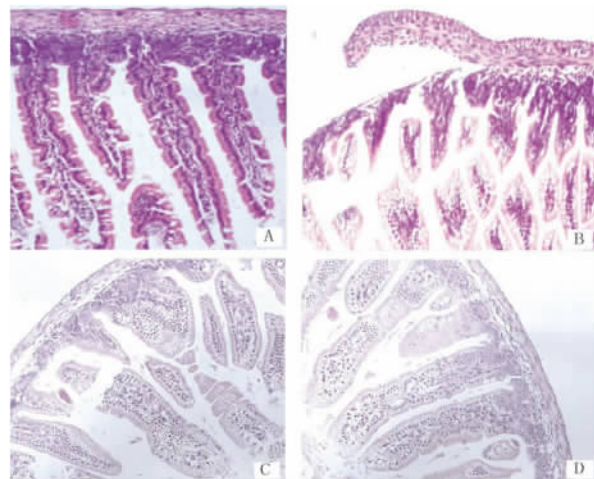


图 1 BALB/c 乳鼠各组病理学变化 HE $\times 100$

A: 正常对照组; B: RV 感染组; C: RV + STAT3 抑制剂组; D: STAT3 抑制剂组

2.1.2 RV 感染不同时间点病理学结果 取 RV 感染不同时间点乳鼠小肠组织做病理切片,经 HE 染色结果显示:感染第 1 天(图 2A)就出现水肿、绒毛破裂等炎症表现,但绒毛刷状缘细胞排列较规整;感染第 2~4 天(图 2B~D)出现炎症加重的现象,水肿加重,绒毛脱落,绒毛刷状缘细胞不规整;感染第 5~8 天(图 2E~H)可以看见小肠组织在逐步恢复,绒毛开始逐渐恢复并排列整齐;感染第 9~10 天(图 2I~J)小肠组织均出现不同程度的炎症,但没有 RV 感染组的第 2~4 天的程度严重。

2.2 BALB/c 乳鼠小肠组织各组不同时间点 IL-22 表达水平检测 正常对照组与 PBS 组没有明显的差别,RV 感染第 1~6 天 IL-22 表达水平有所升高,其中在感染后第 4 天的水平最高,在感染后第 7~10 天与正常对照组 IL-22 表达水平相当,其中从第 1 天开始差异有统计学意义 ($F = 139.0$, $P = 0.0143$)。与正常对照组比较,RV + STAT3 抑制剂组和 STAT3 抑制剂组乳鼠肠组织 IL-22 水平逐渐升高,在感染后的第 1~6 天,RV + STAT3 抑制剂组

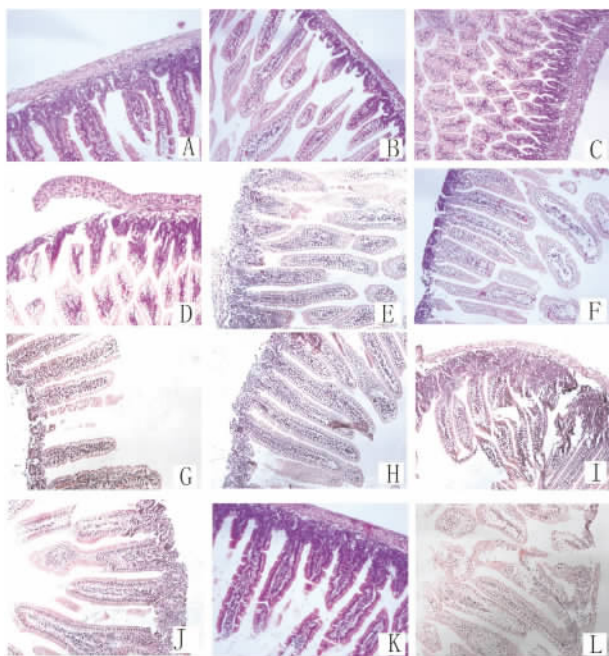


图2 BALB/c 乳鼠 RV 感染不同时间点的病理学变化 HE × 100

A: RV 感染第 1 天; B: RV 感染第 2 天; C: RV 感染第 3 天; D: RV 感染第 4 天; E: RV 感染第 5 天; F: RV 感染第 6 天; G: RV 感染第 7 天; H: RV 感染第 8 天; I: RV 感染第 9 天; J: RV 感染第 10 天; K: 正常对照第 1 天; L: 正常对照第 10 天

IL-22 表达水平升高较 STAT3 抑制剂组更明显,在感染的第 7 天后两组差异无统计学意义。与 RV 感染组比较, RV + STAT3 抑制剂组 IL-22 表达水平逐渐升高,在第 4 天达到最高 ($F = 23.5, P < 0.001$), 结果见图 3。

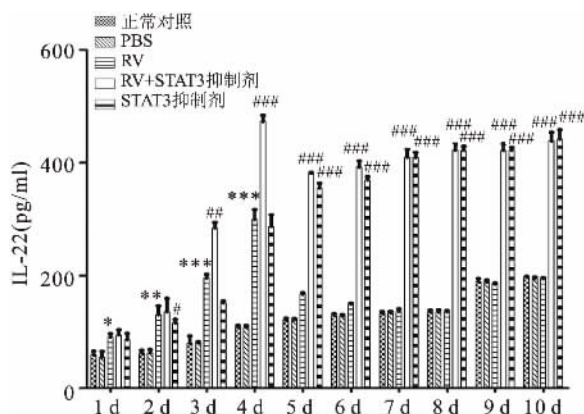


图3 各组感染 BALB/c 乳鼠小肠组织各时间点 IL-22 表达水平
与正常对照组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$; 与 RV 感染组比较: # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, ### $P < 0.001$

2.3 各组 BALB/c 乳鼠小肠组织不同感染时间点 STAT3、pSTAT3 和 RegIII- γ 蛋白的表达情况

2.3.1 各组 BALB/c 乳鼠小肠组织不同感染时间

点 STAT3 的表达情况 采用 Western blot 检测各组蛋白的表达情况。结果显示: 正常对照组和 PBS 组 STAT3 表达水平在不同时间点变化不大; RV 感染组第 1~4 天表达水平逐渐降低且在第 4 天最低,第 5~7 天表达水平逐渐升高,第 8~10 天与正常对照组相当; RV + STAT3 抑制剂组在第 1~2 天表达水平较低,第 3~4 天表达水平有所升高,第 5~10 天表达水平较高,但不同时间点变化不大; STAT3 抑制剂组在每天都维持在高表达水平,但不同时间点变化不大,结果见图 4。

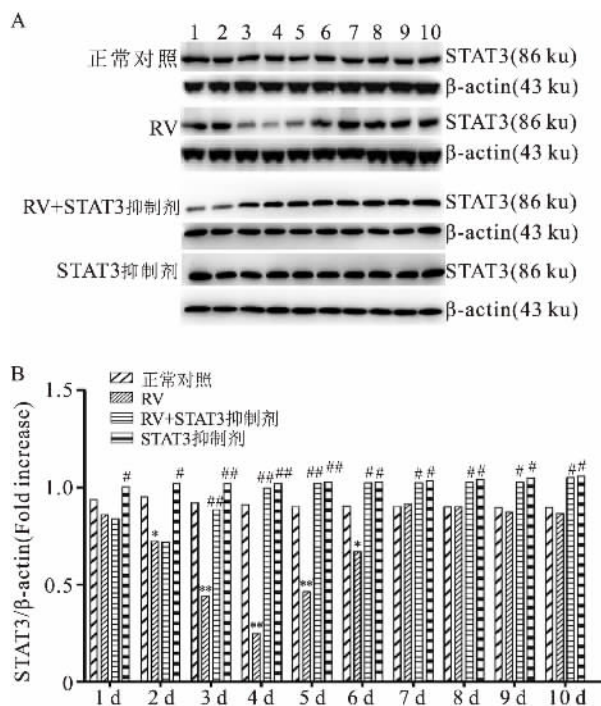


图4 各组感染 BALB/c 乳鼠小肠组织各时间点 STAT3 表达水平
与正常对照组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与 RV 感染组比较: # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

2.3.2 各组 BALB/c 乳鼠小肠组织不同感染时间点 pSTAT3 的表达情况 采用 Western blot 检测各组 pSTAT3 蛋白的表达情况。结果显示,其与 STAT3 表达的趋势相反。正常对照组和 PBS 组的 pSTAT3 表达水平在不同时间点变化不大; RV 感染组第 1~4 天表达水平逐渐升高且第 4 天最高,第 5~7 天表达水平逐渐降低,第 8~10 天与正常对照组相当; RV + STAT3 抑制剂组在第 1~2 天表达水平较高,低于 RV 感染组但略高于正常对照组,第 3~10 天表达水平逐渐降低,低于 RV 感染组; STAT3 抑制剂组表达水平逐渐降低,低于 RV 感染组,结果见图 5。

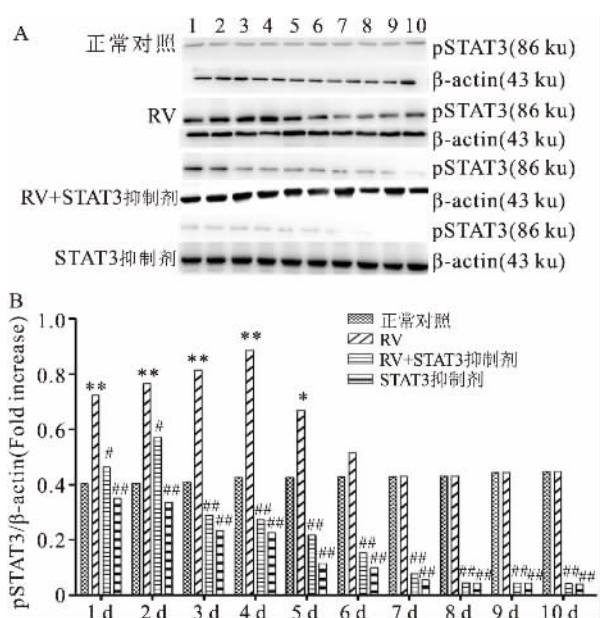


图5 各组感染 BALB/c 乳鼠小肠组织各时间点 pSTAT3 表达水平
与正常对照组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与 RV 感染组比较: # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

2.3.3 各组感染 BALB/c 乳鼠小肠组织不同时间点 Reg III- γ 蛋白的表达情况 采用 Western blot 检测各组 Reg III- γ 蛋白的表达情况。结果显示, Reg III- γ 表达趋势与 pSTAT3 一致, 正常对照组和 PBS 组 Reg III- γ 表达水平在不同时间点变化不大; RV 感染组第 1~4 天表达水平逐渐升高且第 4 天最高, 第 5~7 天表达水平逐渐降低, 第 8~10 天与正常对照组相当; RV + STAT3 抑制剂组在第 1~2 天表达水平较高, 低于 RV 感染组, 略高于正常对照组, 第 3~10 天表达水平逐渐降低, 低于 RV 感染组; STAT3 抑制剂组表达水平逐渐降低, 低于 RV 感染组, 结果见图 6。

3 讨论

RV 是引起肠道腹泻的重要病毒, 主要在全球范围内引起 5 岁以下儿童的严重腹泻^[5]。相关文献报道, RV 感染后通过病理学观察, 可见肠道上皮细胞的持续空泡化、水肿以及小肠绒毛长度变短等炎症变化^[6]。本实验病理结果也出现了类似的现象: RV 感染的第 1 天就出现水肿、绒毛破裂等炎症表现, 但绒毛刷状缘细胞排列较规整; 感染第 2~4 天出现炎症加重的现象, 水肿加重, 绒毛脱落, 绒毛刷状缘细胞不规整; 感染第 5~8 天可见小肠组织在恢复, 绒毛开始逐渐恢复并排列整齐; 绒毛长度前 3 d 变短, 第 4~8 天逐渐变长, 表明虽然第 4 天绒毛有恢复的趋势, 但由于小肠基层的破坏加重, 整体炎症

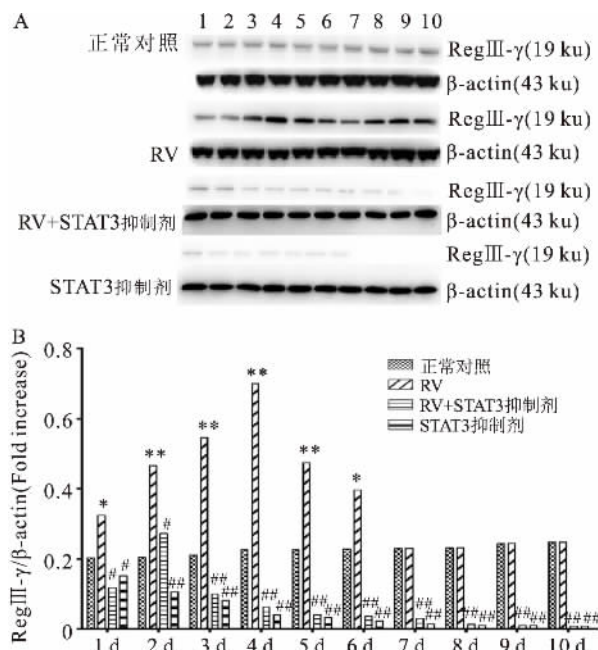


图6 各组感染 BALB/c 乳鼠小肠组织各时间点 Reg III- γ 表达水平
与正常对照组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与 RV 感染组比较: # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

水平也加重。通过病理切片结果说明 RV 感染小肠组织后存在损伤到修复的过程, 然而在感染的第 9~10 天和正常对照组的第 10 天小肠组织均出现程度较小的炎症表现, 分析可能的原因有两点: ① HE 的结果是对病变的主观判断, 很难用数据量化; ② 实验选取的是 7 日龄的乳鼠, 在病毒感染的第 10 天后乳鼠的日龄达到三周龄, 乳鼠进食材料开始由母乳转为饲料, 可能饮食结构的变化导致了轻微的炎症反应。另外, RV 感染和 STAT3 抑制剂都会对肠道组织产生一定破坏, 但通过 HE 结果来看, RV 更倾向于对小肠绒毛的损伤, 这可为后续的研究提供参考。

另外, RV 感染可致细胞因子 IL-6、IL-10、IFN- γ 有明显的升高。相关报道 IL-6 可与肠道中 Th17 细胞上的 IL-6 受体结合, 通过 STAT3 信号通路诱导 IL-22 表达^[7]。IL-22 作为肠上皮细胞 (intestinal epithelial cells, IEC) 中重要的免疫细胞因子, 通过 STAT3 通路活化 BIRC5、pla2g5、SMO、MYC 和 MCL1 等基因促进 IEC 细胞增殖^[8-9], 但 IL-22 对 STAT3 的过度磷酸化又会促使细胞凋亡。本实验中 RV 感染和 RV + STAT3 抑制剂会诱导 IL-22 的升高, 通过 STAT3、pSTAT3、Reg III- γ 蛋白 Western blot 结果显示, IL-22 的升高会激活 STAT3 的磷酸化, 从而磷酸化的 STAT3 能促进 Reg III- γ 的释放。单纯 STAT3 抑制剂虽然能诱导 IL-22 升高, 但由于抑制了

STAT3 的磷酸化,没有促进 Reg III- γ 释放。表明 RV 可以通过诱导 IL-22 激活 pSTAT3 信号通路促进 Reg III- γ 释放。

常见的肠道炎症疾病包含克罗恩病与溃疡性结肠炎等,IL-22 在不同的肠道炎症疾病中表达水平存在差异性,文献报道克罗恩病患者与溃疡性结肠炎患者的肠组织中 IL-22 表达水平相比较前者明显高于后者^[10]。机体中,IL-22 因不同炎症调节因素之间的相互作用不同而发挥着保护或损伤的作用,在肠易激综合征中,T-bet 转录因子的缺乏可引起 IL-23 因子的高度表达,在此刺激下的 IL-22 发挥着致病作用,而在溃疡性结肠炎中,有 Th2 细胞反应介导的 IL-22 可增强肠道组织黏膜的保护作用^[11-12]。另外,肠道发生炎症时,肠上皮的 Paneth 细胞分泌 Reg III- γ 发挥调节肠道生物屏障的作用。相关研究表明 IL-22 可诱导机体产生 Reg III- γ ,Reg III- β 等抗菌肽,其可能机制与 IL-22 介导 pSTAT3 激活 STAT3 信号通路有关^[13-14]。本研究中,RV 感染后,IL-22 的表达升高,其中在感染的第 4 天达到最高峰,pSTAT3 与 Reg III- γ 蛋白的表达均在 RV 感染的第 4 天达到高峰,结合 IL-22、pSTAT3、Reg III- γ 的表达水平,说明 RV 感染后刺激 IL-22 的释放,一方面诱导产生肠道炎症,另一方面高表达的 IL-22 通过 STAT3 磷酸化激活 STAT3 信号通路诱导产生 Reg III- γ ,发挥调节肠道炎症的作用。

参考文献

- [1] Rafaela C, Panko V, Mara M G, et al. Rotavirus a infections in community childhood diarrhea in the brazilian semiarid region during post-vaccination era [J]. Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition, 2019, 69(4) : 2661 - 9.
- [2] Eric N, Srigokul U, Stephen C, et al. Single-particle detection of transcription following rotavirus entry [J]. Journal of Virology, 2017, 91(18) : 651 - 9.
- [3] Glal D, Sudhakar J N, Lu H, et al. ATF3 sustains il-22-induced stat3 phosphorylation to maintain mucosal immunity through inhibiting phosphatases [J]. Frontiers in Immunology, 2018, 9 (5) : 2522 - 32.
- [4] Hu Y L, Gui L Y, Chang J, et al. The incidence of infants with rotavirus enteritis combined with lactose intolerance [J]. Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences, 2016, 29(1) : 321 - 3.
- [5] Sue C, Sasirekha R, Jacqueline E, et al. Rotavirus infection [J]. Nat Rev Dis Primers, 2017, 9(3) : 1708 - 16.
- [6] 张建伟, 夏雪山, 张阿梅, 等. 轮状病毒感染动物模型的研究进展 [J]. 中国预防兽医学报, 2018, 40(6) : 555 - 8.
- [7] Wang L, Yi T, Kortylewski M, et al. IL-17 can promote tumor growth through an il-6-stat3 signaling pathway [J]. Journal of Experimental Medicine, 2009, 206(7) : 1457 - 64.
- [8] Zhao G N, Wang Q H, Gu Q Q, et al. Lentiviral CRISPR/Cas9 nickase vector mediated birc5 editing inhibits epithelial to mesenchymal transition in ovarian cancer cells [J]. Oncotarget, 2017, 8 (55) : 94666 - 80.
- [9] Cao Y J, Zhu W K, Chen W Q, et al. Prognostic value of birc5 in lung adenocarcinoma lacking egfr, kras, and alk mutations by integrated bioinformatics analysis [J]. Disease Markers, 2019, 2019 (3) : 1 - 12.
- [10] Xu A T, Li Y, Zhao D, et al. High suppressor of cytokine signaling-3 expression impairs STAT3-dependent protective effects of interleukin-22 in ulcerative colitis in remission [J]. Inflamm Bowel Dis, 2015, 21(2) : 241 - 50.
- [11] Trifari S, Kaplan C D, Tran E H, et al. Identification of a human helper t cell population that has abundant production of interleukin 22 and is distinct from t(h) -17, t(h) 1 and t(h) 2 cells [J]. Nat Immunol, 2009, 10(8) : 864 - 71.
- [12] Stange J, Hepworth M R, Rausch S, et al. IL-22 mediates host defense against an intestinal intracellular parasite in the absence of IFN- γ at the cost of Th17-driven immunopathology [J]. J Immunol, 2012, 188(5) : 2410 - 8.
- [13] Basu R, O'Quinn D, Silberger D, et al. Th22 cells are an important source of il-22 for host protection against enteropathogenic bacteria [J]. Immunity, 2012, 37(6) : 1061 - 75.
- [14] 杨晓燕. 血小板源性抗菌肽研究进展 [J]. 医学研究生学报, 2014, 27(5) : 550 - 3.

Effect and mechanism of *rotavirus* on intestinal inflammation through STAT3 phosphorylation

Zhang Xiaoyan¹, Zhang Xiaocheng¹, Ding Rui², et al

(¹ Dept of Microbiology, School of Basic Medical Sciences,

² School of Life Sciences, Anhui Medical University, Hefei 230032)

Abstract Objective To study whether *rotavirus* (RV) can promote the phosphorylation of signal transduction activator 3 (STAT 3), induce intestinal epithelial cells to secrete antimicrobial peptide Reg III - γ , and regulate (下转第 305 页)

Stablish prognostic nomogram of colon cancer nomograms: a retrospective study based on the SEER database

Huang Kai, Zhang Changle, Wu Wenyong, et al

(*Dept of Gastrointestinal Surgery, The First Affiliated Hospital
of Anhui Medical University, Hefei 230022*)

Abstract Objective To analyze the prognosis of patients with colon cancer risk factors, constructs the nomogram prediction of colon cancer patients 1 year, 3 years and 5 years survival rate and to analyze clinical benefit. **Methods**

A total of 53 753 colon cancer patients with pathologically confirmed between 2010 and 2015 were obtained from the Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) program. All samples were randomly divided into training ($n = 35\,835$) and validation ($n = 17\,918$) set based on the prognosis status and overall survival time. Univariate and multivariate analysis were performed using Cox proportional hazards regression model to evaluate the prognostic value of 9 clinical parameters including age, pathological stage, AJCC 7th edition T stage, N stage, M stage, positive lymph node ratio (LNR), tissue grade, gender, and chemotherapy. The stepwise regression method was used to identify the potential prognostic risk parameters and a nomogram prognostic model was then established to predict the overall survival (OS). The internal and external calibration curve and decision curve analysis were conducted to evaluate the predictive accuracy of the nomogram. **Results** Age at diagnosis, T, N, M, LNR, tissue grade, gender and chemotherapy were identified as independent prognostic risk parameters of OS based on the training set in both univariate and multivariate analysis ($P < 0.01$). Four clinical parameters including age, T stage, M stage and LNR were screened by stepwise regression analysis and a nomogram prognostic model was established based on the four factors. The average area under the curve (AUC) of ROC curves for 1-year, 3-year and 5-year OS was 0.708 (95% CI: 0.669 ~ 0.753) in the training set and 0.704 (95% CI: 0.681 ~ 0.715) in the validation set. The calibration curve for probability of survival showed excellent consistency between nomogram prediction and actual observation in the entire set, with a bootstrap-corrected concordance index of 0.748 (95% CI: 0.741 ~ 0.755). **Conclusion** We successfully developed a nomogram incorporating four clinical parameters to predict overall survival of colon cancer patients after surgery resection, which showed better performance than the traditional TNM staging system. The established nomogram might help oncologist make appropriate treatment decisions for colon cancer patients.

Key words colon cancer; feature selection; nomogram; prognosis; survival analysis

(上接第 298 页)

intestinal inflammation after infection of BALB/c suckling mice. **Methods** 7-day-old SPF grade BALB/c suckling mice were administrated with RV by gavage. The experiment was divided into five groups: normal control group, PBS control group, RV infection group, RV + STAT3 inhibitor group and STAT3 inhibitor group. Five suckling mice were killed at 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 and 10 days after infection, respectively. Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect the change of IL-22 content in intestinal homogenate, Western blot was used to detect the expression of STAT3, pSTAT3 and Reg III- γ protein at different time points in each group. **Results** After RV infection, the intestinal tissue showed obvious inflammatory reaction, and the level of IL-22 increased gradually with the infection time which reached the maximum value on the fourth day of infection. The protein levels of pSTAT3 and Reg III- γ showed the similar change trend with IL-22, while the protein level of STAT3 showed the opposite trend, and the expression level was the lowest on the fourth day after infection. **Conclusion** RV can activate IL-22/pSTAT3/Reg III- γ signaling pathway and regulate the development of intestinal inflammation.

Key words rotavirus; IL-22; pSTAT3; Reg III- γ ; intestinal inflammation