

基础研究

全反式视黄酸预防性给药可减轻类风湿关节炎模型大鼠的炎症

曾 香¹, 单靖焱¹, 刘 杨^{1,2}, 宁艳花^{1,3}, 谢雪健¹, 申雨燕¹, 宋 杰¹, 李 云¹¹四川大学华西公共卫生学院营养食品卫生与毒理学系, 四川 成都 610041; ²成都市双流区妇幼保健院, 四川 成都 610200; ³宁夏医科大学护理学院社区护理系, 宁夏 银川 750004

摘要:目的 探索全反式视黄酸(ATRA)对Ⅱ型胶原(CⅡ)诱导的类风湿关节炎模型(CIA)大鼠关节炎形成期关节组织结构、血清中相关炎性细胞因子表达水平,以及软骨损伤相关蛋白表达水平的影响。方法 将6~8周龄雌性Wistar大鼠随机分为空白对照组、溶剂对照组、ATRA各剂量组,给予溶剂对照组和ATRA各剂量组大鼠尾部皮内注射CⅡ和不完全弗氏佐剂诱导类风湿关节炎,空白对照组大鼠以相同方式给予等量生理盐水。自初次免疫第2天起,ATRA各剂量组大鼠腹腔注射不同剂量(0.05、0.5、5 mg/kg)的ATRA油剂,溶剂对照组腹腔注射等体积玉米油,空白对照组腹腔注射等体积生理盐水,每周3次,连续3周。观察ATRA对大鼠关节炎指数(AI)评分、踝关节组织病理形态学、血清中相关炎性细胞因子的表达水平及软骨损伤相关蛋白表达水平的影响。结果 自初次免疫第15天起,ATRA各剂量组和溶剂对照组AI值均显著高于空白对照组($P<0.05$),溶剂对照组AI值趋于平稳,ATRA各剂量组AI值呈上升趋势,且低于溶剂对照组($P<0.05$);踝关节病理切片可见,ATRA各剂量组和溶剂对照组踝关节结构出现严重紊乱,但组间关节损伤的半定量评分差异无统计学意义($P>0.05$);此外,与溶剂对照组相比,ATRA各剂量组白介素-17A(IL-17A)和肿瘤坏死因子- α (TNF- α)分泌减少($P<0.05$),白介素-10(IL-10)分泌增多($P<0.05$);膝关节中解整链蛋白金属蛋白酶(ADAMTS-4)和基质金属蛋白酶(MMP-3)表达下调($P<0.05$),其余软骨损伤相关蛋白的表达差异无统计学意义($P>0.05$)。结论 在胶原诱导关节炎形成期,ATRA可抑制TNF- α 、IL-17A等促炎因子的分泌,促进IL-10的分泌,从而减轻CIA大鼠关节炎形成期的炎症反应。说明ATRA在关节炎形成期可延缓疾病的进展,其作用机制可能与纠正Th1/Th2及Th17/Treg失衡有关。

关键词:类风湿关节炎;胶原诱导性关节炎;全反式视黄酸

Prophylactic administration of all-trans retinoic acid alleviates inflammation in rats with collagen-induced arthritis

ZENG Xiang¹, SHAN Jingyan¹, LIU Yang^{1,2}, NING Yanhua^{1,3}, XIE Xuejian¹, SHEN Yuyan¹, SONG Jie¹, LI Yun¹¹Department of Nutrition and Food Hygiene, West China School of Public Health, Sichuan University, Chengdu 610041, China; ²Chengdu Shuangliu District Maternal and Children's Healthcare Hospital, Chengdu 610200, China; ³Department of Community Nursing, School of Nursing, Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, China

Abstract: Objective To investigate the effects of prophylactic administration of all-trans retinoic acid (ATRA) in relieving inflammation in a rat model of collagen-induced arthritis (CIA). **Methods** Female Wistar rats (6 to 8 weeks old) were randomly divided into normal control group, solvent control group, and prophylactic ATRA treatment (0.05, 0.5, and 5 mg/kg) groups. All the rats except for those in normal control group were subjected to subcutaneous injection of type II collagen and incomplete Freund adjuvant in the tails to induce CIA, followed by injection on the following day with saline, corn oil or different doses of ATRA 3 times a week. The arthritis index (AI) scores, histological scores, serum levels of TNF- α , IL-17A, and IL-10, and expressions of proteases related with cartilage damage were evaluated. **Results** On the 15th day after the primary immunization, the AI scores increased significantly in all but the normal control groups; the scores increased progressively in all the 3 ATRA groups but remained lower than that in the solvent control group, which was stable over time. The rats in the 3 ATRA groups showed obvious pathologies in the knee and ankle joints, but the semi-quantitative scores of pathology damage showed no significance among them. Compared with those in solvent control group, the serum IL-17A and TNF- α levels decreased, serum IL-10 level increased, and the expressions of ADAMT-4 and MMP-3 proteins decreased significantly in the knees in the 3 ATRA groups. **Conclusion** ATRA can reduce the production of TNF- α and IL-17A and increase the production of IL-10 to alleviate the inflammation in rats with CIA. ATRA may delay the progression of RA by correcting the imbalance of Th1/Th2 and Th17/Treg.

Keywords: rheumatoid arthritis; collagen-induced arthritis; all-trans retinoic acid

收稿日期:2016-10-25

基金项目:国家自然科学基金(81372983)

Supported by National Natural Science Foundation of China (81372983).

作者简介:曾 香,在读硕士研究生,E-mail: zengxiang521@icloud.com

通信作者:李 云,博士生导师,E-mail: liyun_611@163.com

类风湿关节炎(Rheumatoid arthritis, RA)是一种以关节滑膜炎性病变为主要特征的慢性自身免疫性疾病,主要表现为滑膜炎及增生、自身抗体的产生、软骨及骨的破坏,严重者关节功能丧失,甚至畸形、伤残^[1-2]。

1977年,Trentham^[3]在50%的RA患者血清中发现了抗Ⅱ型胶原(CⅡ)的自身抗体,随后成功建立了Ⅱ型胶原诱导的类风湿关节炎模型(CIA),其临床症状和病理变化与人类RA相似。虽然RA的发病机制尚未明确,但有研究表明CD₄⁺T细胞参与RA的发生及发展^[4],主要表现为Th1/Th2平衡向Th1倾斜,Th17/Treg平衡向Th17倾斜^[5-6]。近年来,有学者报道视黄酸可以通过激活视黄酸受体和类视黄醇X受体,调节T细胞的分化,减少促炎因子的释放,发挥免疫调节的作用^[7-9]。本课题组前期研究结果也证实,全反式视黄酸(ATRA)对CIA大鼠的炎症症状具有一定的缓解作用^[10]。但是,预防性给药对RA的预防及缓解作用尚不清楚。对此,本实验于CIA诱导开始时预防性给予大鼠不同剂量的ATRA,探讨ATRA对RA的预防作用及其机制。

1 材料和方法

1.1 实验动物

60只SPF级健康Wistar雌性大鼠,6~8周龄,体重200±20g,由成都达硕实验动物中心提供,动物合格证号为SCXK(川)2013-24 0017735。四川大学华西公共卫生学院实验动物中心SPF动物房饲养,5只/笼,饲料和饮水由实验动物中心供给,实验动物使用许可证号为SYXK(川)2011-011。

1.2 主要试剂

牛CⅡ和不完全弗氏佐剂(美国Chondrex);ATRA(美国Sigma);Aladdin玉米油(上海晶纯);TNF- α 、IL-10、IL-17A的ELISA试剂盒(均购于美国eBioscience);抗解整链蛋白金属蛋白酶(ADAMTS-4)抗体(武汉博士德);抗基质金属蛋白酶(MMP-1)抗体(Abnova);抗基质金属蛋白酶(MMP-3)抗体(Abcam);抗金属蛋白酶组织抑制因子(TIMP-1)抗体(Biorbyt);超敏二步法免疫组化检测试剂盒、生物素-链霉卵白素免疫组化试剂盒和浓缩型DAB试剂盒(均购于北京中杉金桥);其它化学试剂均为国产分析纯。

1.3 主要仪器

高压蒸汽灭菌器(上海申安);超净工作台(苏州安泰);手持匀浆器(德国IKA);低温冷冻离心机(美国ThermoFisher);酶标仪(美国BIO-RAD);电子天平(德国Sartorius);显微镜(德国Leica)。

1.4 实验方法

1.4.1 实验分组 将Wistar大鼠随机分成空白对照组、溶剂对照组、ATRA低剂量组、ATRA中剂量组、ATRA高剂量组,每组12只。

1.4.2 关节炎模型诱导 溶剂对照组和ATRA各剂量组给予胶原诱导关节炎模型,方法同前期研究报道^[10]。空白对照组给予等量生理盐水,给药方式与诱导关节炎模

型相同。

1.4.3 干预处理 自初次免疫后第1天起,ATRA低、中、高剂量组大鼠腹腔注射给予0.05、0.5、5 mg/kg的ATRA玉米油溶液,空白对照组和溶剂对照组分别腹腔注射等体积的生理盐水和玉米油,每周3次,连续3周。

1.4.4 关节炎指数AI评分 加强免疫后,采用AI评分标准进行评分,1次/3d。实验员经统一培训后,采用双人同时独立评分,以二者均值进行统计分析。

1.4.5 组织形态学观察 初次免疫后第24天,以40 mg/kg的戊巴比妥钠对大鼠进行腹麻醉,取血后处死,分离出双侧膝关节,甲醛固定、脱钙后石蜡包埋、切片,HE染色显微镜下观察关节的组织形态学变化。

按照Masakazu分级法(5级)^[11]对关节病理损伤进行总体半定量评分,并单独对关节滑膜炎进行半定量评分^[12]。评分采用双人单独评分,取均值进行统计分析。

1.4.6 ELISA法测定相关炎症因子水平 按ELISA试剂盒操作说明书,测定大鼠血清中相关炎症细胞因子IL-10、IL-17A、TNF- α 的表达水平。

1.4.7 炎症相关蛋白的免疫组化法检测 采用SP二步法测定ADAMTS-4、PV二步法测定MMP-1、MMP-3、TIMP-1,方法同前期研究^[10]。4个指标一抗稀释倍数依次为:ADAMTS-4,1:400;MMP-1,1:100;MMP-3,1:200;TIMP-1,1:200。用Image-Pro Plus6.0图像处理软件进行染色区域光密度分析,测量平均光密度值(A)。

1.4.8 数据统计分析 实验结果采用SPSS 17.0进行统计分析,统计结果均以均数±标准差表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用LSD法,方差不齐时用Games-Howell校正,重复测量的数据采用重复测量资料的方差分析,当 $P<0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况

初次免疫后第13天,大鼠开始出现关节红肿,表皮温度升高。第15天开始进入出模高峰期。与空白对照组大鼠相比,CIA大鼠体质量增长缓慢,毛发无光泽且轻微脱毛,后足体积和形态上出现明显变化(图1),可见暴躁、攻击等行为表现。实验后期,CIA大鼠出模率为67%。

2.2 关节炎指数

重复测量资料的方差分析发现:ATRA各剂量组大鼠AI值差异有统计学意义($P<0.05$),且时间和剂量间存在交互作用($P<0.05$)。从第15天开始,溶剂对照组的AI评分趋于平稳,ATRA各剂量组的AI评分呈上升趋势,但ATRA各剂量组出模大鼠的AI评分显著低于溶剂对照组;ATRA低、高剂量组与溶剂对照组差异有统计学意义($P<0.05$,表1)。



图1 正常大鼠和CIA造模大鼠

Fig.1 Hindlimb joints of a normal rat (A) and a CIA rat (B).

表1 不同时间点上大鼠的关节炎指数

Tab.1 Changes of arthritis index over time in different groups (n=8)

Group	15 days	18 days	21 days
Normal control group	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
Solvent control group	7.30±1.13*	7.45±1.43*	7.7±1.89*
ATRA low-dose group	3.89±3.89 [#]	4.44±3.36 ^{#△}	4.78±3.07 ^{#△}
ATRA middle-dose group	5.75±2.92	6.38±2.77 [△]	6.75±2.55 [△]
ATRA high-dose group	4.45±4.37 [#]	5.00±3.95 ^{#△}	5.64±4.34 ^{#△}

* $P<0.05$ vs normal control group; [#] $P<0.05$ vs solvent control group; [△] $P<0.05$ vs 15 d; [△] $P<0.05$ vs 18 d.

2.3 组织形态学

HE染色结果显示空白对照组膝、踝关节结构完整,关节软骨面及关节腔间隙正常;相较于空白对照组,溶剂对照组可见纤维组织增生,滑膜组织向软骨面爬行形成血管翳,踝关节结构可见明显改变,关节软骨面大量脱落,可见骨侵蚀,大量新生骨组织形成严重的软骨破坏,关节腔间隙明显缩小;ATRA各剂量组膝关节损伤较溶剂对照组轻,关节软骨面结构正常或可见脱落,有少量血管翳,少量滑膜组织爬行形成血管翳,踝关节较膝关节受累严重,关节软骨面脱落,新生骨组织形成软骨破坏,关节腔间隙相对缩小(图2)。

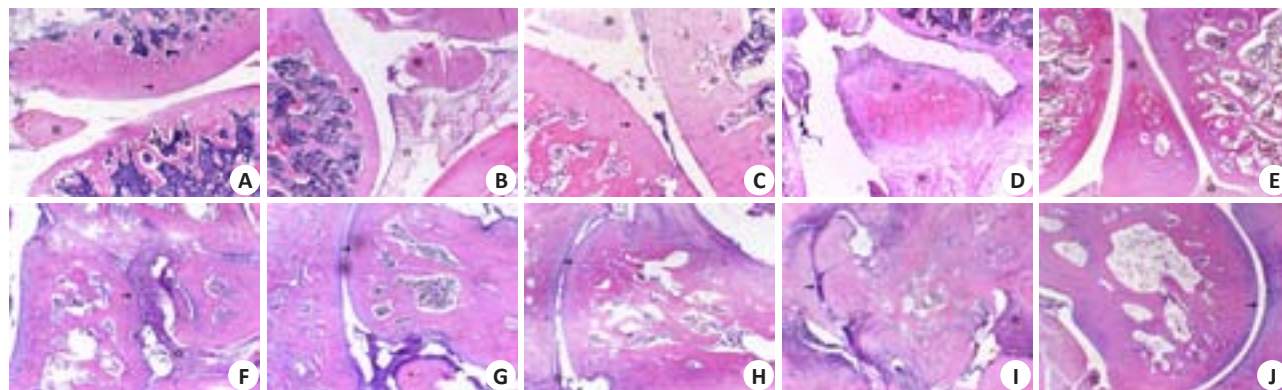


图2 大鼠膝关节和踝关节HE染色

Fig.2 HE staining of the knee joints (upper panel) and ankle joints (lower panel) of the rats (Original magnification: ×40). A, F: Normal control group; B, G: Solvent control group; C, H: ATRA low-dose group; D, I: ATRA middle-dose group; E, J: ATRA high-dose group.

2.4 ATRA对关节病理损伤的影响

与空白对照组相比,其余各组关节病理损伤评分差异有统计学意义($P<0.05$);ATRA各剂量组评分低于溶剂对照组,但仅高剂量组的踝关节评分差异有统计学意义($P<0.05$);其余各组评分两两比较无统计学意义($P>0.05$)。与空白对照组相比,其余各组滑膜炎评分均有差异($P<0.05$),但两两比较差异无统计学意义

($P>0.05$,表2)。

2.5 ATRA对相关蛋白表达水平的影响

ADAMT-4、MMP-1、MMP-3和TIMP-1的免疫组化阳性反应定位在软骨细胞及滑膜组织,呈棕红色(图3)。在膝关节上,与溶剂对照组相比,ATRA低剂量组的ADAMT-4和ATRA中剂量组的MMP-3表达下调($P<0.05$),ATRA高剂量组的MMP-1表达上调($P<0.05$),

表2 对关节病理损伤的影响
Tab.2 Effect of ATRA on joint pathological damage scores (n=8)

Group	Masakazu score of keen	Masakazu score of ankle	Synovitis score of knee	Synovitis score of ankle
Normal control group	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
Solvent control group	2.08±2.28*	5.58±2.01*	1.25±1.60*	3.75±1.33*
ATRA low-dose group	1.81±0.92*	4.31±1.79*	0.93±0.32*	2.81±1.46*
ATRA middle-dose group	1.81±1.51*	4.87±2.24*	1.31±1.03*	3.68±1.81*
ATRA high-dose group	1.61±1.83*	3.72±1.75* [#]	1.00±1.14*	2.56±1.21*

*P<0.05 vs normal control group; [#]P<0.05 vs solvent control group.

其余各组差异无统计学意义(P>0.05);在踝关节上,仅白表达与溶剂对照组差异无统计学意义(P>0.05,表4,5)。ATRA 高剂量组的MMP-3高于溶剂对照组,其余各组蛋

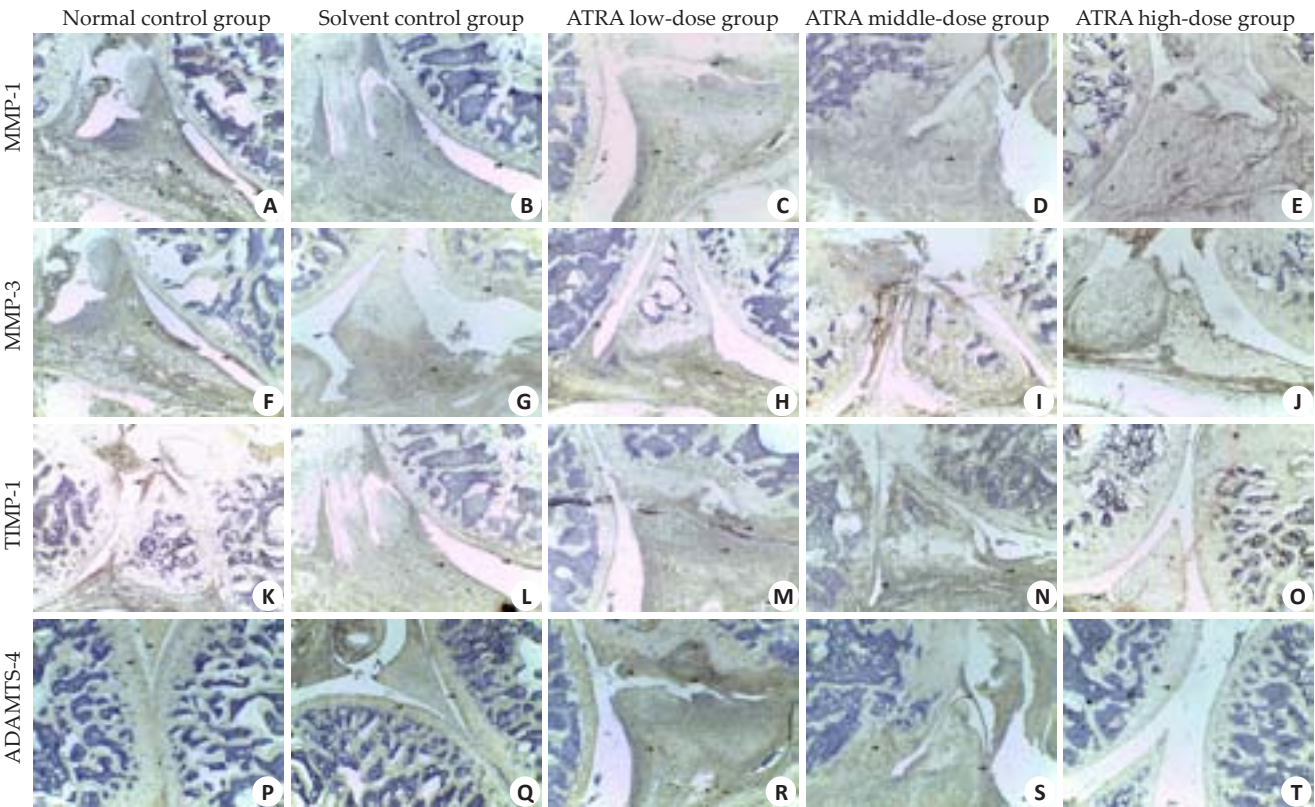


图3 ATRA 对大鼠蛋白表达的影响
Fig.3 Effect of ATRA on protein expression in the rats (×40).

表3 对细胞因子水平的影响
Tab.3 Effect of ATRA on cytokine levels (n=8)

Group	L-10	IL-17A	TNF-α
Solvent control group	107.66±33.06	4.00±0.83	97.69±4.78
ATRA low-dose group	159.36±35.68 [#]	3.31±0.90	85.93±4.61 [#]
ATRA middle-dose group	108.23±14.55	3.01±0.80 [#]	95.07±17.18
ATRA high-dose group	153.90±39.46 [#]	2.82±0.72 [#]	84.25±7.31 [#]

[#]P<0.05 vs solvent control group.

表4 对大鼠膝关节相关蛋白AOD值的影响

Tab.4 Effects of ATRA on protein expressions (absorbance) of the rats' knee joint ($n=8$)

Group	ADAMT-4	MMP-1	MMP-3	TIMP-1
Solvent control group	0.10±0.005	0.087±0.003	0.11±0.005	0.16±0.007
ATRA low-dose group	0.09±0.007 [#]	0.088±0.001	0.10±0.011	0.16±0.050
ATRA middle-dose group	0.10±0.010	0.087±0.001	0.096±0.001 [#]	0.16±0.040
ATRA high-dose group	0.10±0.005	0.09±0.001 [#]	0.11±0.005	0.16±0.006

[#] $P<0.05$ vs solvent control group.

表5 对大鼠踝关节相关蛋白AOD值的影响

Tab.5 Effects of ATRA on protein expressions (absorbance) of the rats' ankle joint ($n=8$)

Group	ADAMT-4	MMP-1	MMP-3	TIMP-1
Solvent control group	0.11±0.007	0.087±0.001	0.11±0.01	0.16±0.005
ATRA low-dose group	0.10±0.010	0.086±0.001	0.11±0.007	0.16±0.005
ATRA middle-dose group	0.10±0.060	0.087±0.002	0.11±0.012	0.16±0.004
ATRA high-dose group	0.10±0.007	0.087±0.001	0.13±0.012 [#]	0.16±0.007

[#] $P<0.05$ vs solvent control group.

3 讨论

CIA大鼠模型是应用最为广泛的一种RA动物模型,因为它具有很多人类RA的细胞和体液免疫特征^[13-14]。CIA大鼠模型通过软骨蛋白产生自身免疫反应,从而诱导关节炎的发生,产生抗CⅡ抗体。本实验通过CⅡ诱导成功建立了CIA大鼠模型,通过在RA形成期使用ATRA对造模大鼠进行干预,探究ATRA对RA形成的预防作用及其机制。实验过程中,造模大鼠RA症状明显,多为后足,踝严重受累,前爪发病率较低,与Zhang等^[15]研究结果一致。虽各组出模率相同,但ATRA各剂量组大鼠各时点的AI值均低于溶剂对照组,出模较晚,提示出模前给予ATRA对RA症状有预防性的缓解作用。

CIA模型最初的病理变化依赖于特异性T细胞的CD4⁺表面抗原,T细胞活化及相关细胞因子的产生是RA的重要发病机制之一^[4]。研究表明,各种免疫细胞分泌的细胞因子如IL-17、IL-10、TNF- α 等在RA形成过程中发挥着重要作用^[16]。IL-10是公认的免疫抑制因子,在体内的来源主要是单核巨噬细胞、Th2细胞和Foxp3⁺Treg细胞,可以抑制巨噬细胞分泌IL-23,而IL-23在Th17介导的细胞免疫中起重要作用^[17]。IL-17是主要促炎效应因子,可以激活免疫淋巴T细胞和相关细胞。在动物实验中,IL-17的相关抗体可明显缓解CIA鼠的关节炎症,同时减轻骨组织的破坏,并且下调某些炎症因子的表达^[18]。TNF- α 是RA发病机制中关键的促炎因子之一,主要由Th1细胞分泌,在RA滑膜增生、软骨/骨破坏和全身炎症反应中发挥重要作用^[19]。在

本研究中,我们发现ATRA各剂量组IL-10的表达水平增加,IL-17A和TNF- α 的表达水平减少,与溶剂对照组相比差异有统计学意义,表明预防性给予ATRA对CIA大鼠炎症症状的缓解作用可能与纠正CIA大鼠血清Th1/Th2和Th17/Treg失衡有关。该结果与Kowk、Yuji等^[20-21]的研究结果基本一致,但有效剂量不同。我们发现,不同剂量对不同炎症因子的影响是有区别的,如ATRA低、高剂量组对IL-10、TNF- α 的调节作用与溶剂对照组相比差异有统计学意义,而中剂量组差异无统计学意义,对IL-17A中、高剂量组却有明显下调作用。可能是因为ATRA对某些相关炎症因子具有双向性U形作用,而非常规线性量效关系,具体原因及机制尚不明确,还需进一步研究探讨。

在类风湿关节炎中,血管翳爬行、覆盖于关节软骨面,对软骨及骨造成进行性破坏^[22]。大量研究表明,ADAMTS和MMPs在RA的软骨基质降解导致骨质破坏过程中起着主要作用^[23-24]。ADAMTS-4在骨关节炎中的作用已被证实^[25]。在本研究中,由病理评分可以发现,在RA骨质破坏发展中,踝关节首先受累,且骨质破坏较膝关节严重。ATRA各剂量组ADAMT-4的蛋白表达水平和溶剂对照组均明显上调,但在膝关节上,ATRA低剂量组较溶剂对照组有所下调,提示在RA骨质破坏早期,低剂量ATRA可在一定程度上抑制ADAMTS-4对蛋白聚糖的酶解作用。本研究结果显示,CIA大鼠MMP-3的蛋白表达明显上调,但在膝关节,ATRA中剂量组MMP-3的蛋白表达较溶剂对照组

有所下调,与前期研究结果一致^[10],表明 ATRA 对 MMPs/TIMPs 失衡有潜在的纠正作用倾向,但效果不明显。

综上所述,在胶原诱导关节炎形成期,ATRA 促进 IL-10 的分泌,并抑制 TNF- α 、IL-17A 等促炎因子的分泌,可能在一定程度上纠正了 Th1/Th2 及 Th17/Treg 失衡,从而减轻 CIA 大鼠关节炎早期的炎症反应。

参考文献:

- [1] 曾小峰,谭爱春,谢小平,等.我国类风湿关节炎疾病负担和生存质量研究的系统评价[J].中国循证医学杂志,2013,13(3):300-7.
- [2] McInnes IB, Schett G. The pathogenesis of rheumatoid arthritis[J]. N Engl J Med, 2011, 365(23): 2205-19.
- [3] Trentham DE, Townes AS, Kang AH. Autoimmunity to type II collagen: an experimental model of arthritis[J]. J Exp, 1977, 146(3): 857-66.
- [4] Falgarone G, Semerano L, Rulle S, et al. Targeting lymphocyte activation to treat rheumatoid arthritis[J]. Joint Bone Spine, 2009, 76(4): 327-32.
- [5] Zhou X, Hua X, Ding X, et al. Trichostatin differentially regulates Th1 and Th2 responses and alleviates rheumatoid arthritis in mice[J]. J Clin Immunol, 2011, 31(3): 395-405.
- [6] Mucida D, Pino-Lagos K, Kim G, et al. Retinoic acid can directly promote TGF-beta-mediated Foxp3(+) Treg cell conversion of naive T cells[J]. Immunity, 2009, 30(4): 471-2.
- [7] Pino-Lagos K, Guo Y, Noelle RJ. Retinoic acid: a key player in immunity[J]. Biofactors, 2010, 36(6): 430-6.
- [8] Boissier MC. Cell and cytokine imbalances in rheumatoid synovitis[J]. Joint Bone Spine, 2011, 78(3): 230-4.
- [9] Miyabe Y, Miyabe C, Nanki T. Could retinoids be a potential treatment for rheumatic diseases [J]? Rheumatol Int, 2015, 35(1): 35-41.
- [10] 谢雪健,申雨燕,宋杰,等.全反式视黄酸对 CIA 大鼠血清炎性细胞因子及软骨损伤相关蛋白表达的影响[J].四川大学学报:医学版,2016,47(4): 479-84.
- [11] 王岩艳. II 型胶原诱导的大鼠关节炎动物模型的研究[D].四川大学,2006.
- [12] Roth A, Mollenhauer J, Wagner A, et al. Intra-articular injections of high-molecular-weight hyaluronic acid have biphasic effects on joint inflammation and destruction in rat antigen-induced arthritis [J]. Arthritis Res Ther, 2005, 7(3): R677-86.
- [13] Holmdahl R, Andersson M, Goldschmidt TJ, et al. Type II Collagen Autoimmunity in Animals and Provocations Leading to Arthritis[J]. Immunol Rev, 1990, 118: 193-232.
- [14] 张敏娜. 类风湿关节炎的实验动物模型及其评价[J]. 实验动物科学, 2011, 28(4): 57-9.
- [15] Zhang P, Han D, Tang T, et al. The destruction evaluation in different foot joints: new ideas in collagen-induced arthritis rat model[J]. Rheumatol Int, 2009, 29(6): 607-13.
- [16] Feldmann M, Brennan FM, Maini RN. Rheumatoid arthritis [J]. Cell, 1996, 85(3): 307-10.
- [17] Raychaudhuri B, Fisher CJ, Farver CF, et al. Interleukin 10 (IL-10)-mediated inhibition of inflammatory cytokine production by human alveolar macrophages [J]. Cytokine, 2000, 12(9): 1348-55.
- [18] Kimura A, Kishimoto T. IL-6: Regulator of Treg/Th17 balance[J]. Eur J Immunol, 2010, 40(7): 1830-5.
- [19] Yoshimatsu H, Okazaki F, Ieiri I, et al. Mechanism of the 24 hour rhythm of tumor necrosis factor-alpha formed by onset of rheumatoid arthritis[J]. Chronobiol Int, 2014, 31(4): 564-71.
- [20] Kwok SK, Park MK, Cho ML, et al. Retinoic acid attenuates rheumatoid inflammation in mice [J]. J Immunol, 2012, 189(2): 1062-71.
- [21] Nozaki YJ, Yamagata T, Sugiyama M, et al. Anti-inflammatory effect of all-trans-retinoic acid in inflammatory arthritis [J]. Clin Immunol, 2006, 119(3): 272-9.
- [22] 苏金. DDR2 调控 MMP-13 表达的分子机制及其与类风湿性关节炎关节软骨破坏关系的研究[D]. 第四军医大学, 2008.
- [23] Glasson SS, Askew R, Sheppard B, et al. Deletion of active ADAMTS5 prevents cartilage degradation in a murine model of osteoarthritis[J]. Nature, 2005, 434(7033): 644-8.
- [24] 杨文芳,周惠琼.蛋白聚糖异常代谢与类风湿关节炎相关性研究进展[J].中华临床医师杂志:电子版,2013,7(10): 4485-8.
- [25] Yamamoto K, Murphy G, Troeberg L. Extracellular regulation of metalloproteinases[J]. Matrix Biol, 2015, 44-46: 255-63.

(编辑:经媛)