

谭宁,贺守第,关丽,等. 蜂毒肽对胶原诱导关节炎大鼠模型 Th17/Treg 平衡及炎症的影响 [J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(2): 1-6.

Tan N, He SD, Guan L, et al. Effects of melittin on Th17/Treg balance and inflammation in rat model of collagen-induced arthritis[J]. Chin J Comp Med, 2019, 29(2): 1-6.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2019.02.001

蜂毒肽对胶原诱导关节炎大鼠模型 Th17/Treg 平衡及炎症的影响

谭宁^{1,2}, 贺守第², 关丽³, 杨平常⁴, 刘志刚⁴, 黎德育^{2*}

(1. 广州中医药大学第一临床医学院, 广州 510000; 2. 深圳市南山区人民医院中医风湿科, 广东 深圳 518060; 3. 深圳市罗湖区人民医院风湿免疫科 广东 深圳 518000; 4. 深圳大学过敏反应与免疫学研究所 广东 深圳 518055)

【摘要】 目的 探讨蜂毒肽干预胶原诱导关节炎大鼠模型后对 Th17/Treg 平衡调控及关节炎炎症的影响。方法 将 30 组 SD 大鼠随机分为正常对照组 6 只, 其余 24 只 SD 大鼠于第 1 天尾根部注射牛 II 胶原, 第 10 天再次注射 II 胶原建立胶原诱导关节炎模型, 第 14 天淘汰 6 只未建模成功的大鼠, 筛选出 18 只建模成功的大鼠按随机数字表法分为模型组、蜂毒肽组、甲氨蝶呤组, 每组 6 只。第 14 天蜂毒肽组腹腔注射蜂毒肽 (0.5 mg/kg, 隔日 1 次), 甲氨蝶呤注射组注射甲氨蝶呤 (每只 1 mg, 每周 1 次, 共 3 次), 模型组、正常组腹腔注射等量灭菌注射用水, 第 32 天麻醉处死后, 收集血清, ELISA 法检测血清中 TNF- α 、IL-10、IL-17 A 浓度, 分离大鼠脾脏, 提取淋巴细胞, MTS 检测单个核细胞活性, 流式细胞术检测 Th17、Treg 细胞的比例, HE 染色观察踝关节病理变化。结果 蜂毒肽、甲氨蝶呤降低血清中 TNF- α 、IL-17 A 浓度 ($P < 0.01$, $P < 0.05$), 升高 IL-10 浓度 ($P < 0.05$); 蜂毒肽、甲氨蝶呤抑制淋巴细胞活性 ($P < 0.05$); 蜂毒肽、甲氨蝶呤能下调 Th17 细胞比例 ($P < 0.05$), 上调 Treg 细胞比例 ($P < 0.01$, $P < 0.05$); 蜂毒肽、甲氨蝶呤组减少滑膜增生, 抑制炎症细胞浸润, 延缓骨和关节软骨破坏。结论 蜂毒肽能调节胶原诱导关节炎大鼠模型 Th17/Treg 平衡, 抑制关节的炎症。

【关键词】 蜂毒肽; Th17; Treg; 胶原诱导关节炎; 大鼠; 炎症

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2019) 02-0001-06

Effects of melittin on Th17/Treg balance and inflammation in rat model of collagen-induced arthritis

TAN Ning^{1,2}, HE Shoudi², GUAN Li³, YANG Pingchang⁴, LIU Zhigang⁴, LI Deyu^{2*}

(1. The First Clinical Medical College of Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510000, China.

2. Traditional Chinese Medicine Department of Rheumatism, Shenzhen Nanshan People's Hospital, Shenzhen 518060.

3. Department of Rheumatological Immunology, Luohu District people's Hospital, Shenzhen City, Shenzhen 518060.

4. Institute of Allergy and Immunology, Shenzhen University, Shenzhen 518060)

【Abstract】 **Objective** To investigate the effects of melittin on Th17/Treg balance and arthritis-associated inflammation in a rat model of collagen-induced arthritis. **Methods** Thirty Sprague Dawley rats were randomly allocated into a normal group, while 24 SD rats were injected with bovine collagen II on the 1st day and again on the 10th day to

【基金项目】 国家自然科学基金 (81271950)、深圳市科技计划基础研究项目 (JCYJ20170307162827158)、深圳市卫生计生科研项目 (201506091、201606050); 深圳市南山区科技项目 (2015021、2017016)。

【作者简介】 谭宁 (1977—), 女, 硕士研究生, 研究方向: 风湿免疫、中药研究。E-mail: helunkun@163.com

【通信作者】 黎德育 (1966—), 男, 教授, 主任医师, 研究方向: 风湿免疫、中医中药。E-mail: 282111306@qq.com

establish a collagen-induced arthritis model. On the 14th day, elimination of 6 unmodeled rats and 18 model rats in which the model had been successfully established were selected and divided into a model group, a melittin group, and a methotrexate group by a random number table method. On the same day, the melittin group was injected with melittin (0.5 mg/kg, once every other day), while the methotrexate group was injected with methotrexate (1 mg only, once per week, three times). The model group and the normal group were intraperitoneally injected with equal amounts of distilled water; then, on the 32nd day, the rats were executed. The concentrations of TNF- α , IL-10, and IL-17 A in serum were determined by ELISA. The spleen of each rat was removed, the leukomonocytes were extracted, the activity of leukomonocytes was detected by MTS, and the proportions of Th17 and Treg cells were determined by flow cytometry. Pathological changes of the ankle joint were also observed by HE staining. **Results** Melittin and methotrex significantly decreased the concentrations of TNF- α and IL-17 A ($P < 0.01$, $P < 0.05$), increased the concentration of IL-10 ($P < 0.05$), inhibited the activity of leukomonocytes ($P < 0.05$), decreased the proportion of Th17 cells ($P < 0.05$), and increased the proportion of Treg cells ($P < 0.01$, $P < 0.05$). In the melittin group and methotrex group, the proliferation of synovial membrane was decreased, which prevented formation of the pannus and delayed the destruction of bone and articular cartilage. **Conclusions** Melittin can regulate Th17/Treg balance and inhibit joint inflammation in rats with collagen-induced arthritis.

【Keywords】 melittin; Th17; treg; collagen induced arthritis; rats; inflammation

类风湿性关节炎 (rheumatoid arthritis, RA) 是一种引起多关节功能障碍及畸形的自身免疫性疾病^[1]。虽然 RA 的发病机制并不完全明确,但目前发现遗传和免疫因素与类风湿关节炎相关。RA 的病因是多方面的,但主要炎症因子及促炎细胞因子的过度表达是本病大多数病理过程中的重要原因。虽然现在公认类风湿关节炎是以 Th1 细胞介导的炎症性疾病,但研究发现除了 Th1 细胞, Th17 细胞在促进类风湿关节炎的炎症和疾病进展起重要作用。Th17 细胞产生 IL-17 诱导关节炎,同时还能激活核因子 κ B 受体活化因子配体 (receptor activator of nuclear factor- κ B ligand, RANKL) 促进骨质破坏^[2-3]。而 Th17 细胞的活化需要 TGF- β 、IL-10 和 IL-23 等炎症因子的激活。研究表明调节性 T 细胞 (Treg 细胞) 分泌诸如 IL-10 等免疫抑制性细胞因子,并抑制 RA 进程中的免疫反应。最近有人认为 Th17 和 Treg 细胞之间的相互平衡可能是的重要治疗策略^[4-5]。

目前治疗 RA 的西药有非类固醇抗炎药物、改变病情抗风湿药物、糖皮质激素以及生物制剂等。虽然上述药物对 RA 有较好的治疗作用,但是副作用大、价格昂贵,致使病人的依从性差,临床应用受到很大的限制。中医药对于风湿病的治疗有着悠久的历史,蜂毒疗法作为中医药的传统的对 RA 确实有明显的疗效。蜂毒肽 (melittin, MT) 是蜂毒的主要成分,是蜂毒中具有药理作用和生物活性的主要组分^[6]。MT 具有抗炎、降压、抗风湿性关节炎及抗肿瘤等多种药理活性。本实验通过研究蜂

毒肽对胶原诱导关节炎 (collagen induce athritis, CIA) 模型关节炎及对 Th17/Treg 细胞影响,为蜂毒治疗类风湿关节炎提供新的理论依据。

1 材料和方法

1.1 实验动物

SPF 级健康 SD 雌性大鼠 30 只,体重 150 ~ 170 g,购于广东省实验动物中心 [SCXK(粤)2014-0035];饲养于深圳大学医学部 SPF 实验动物中心 [SYXK(粤)2014-0140]。饲养条件:自由取水和进食,温度 20 $^{\circ}$ C ~ 25 $^{\circ}$ C,相对湿度 40% ~ 50%,照明时间为白天 12 h 和黑夜 12 h,适应性饲养 1 周。实验动物饲养及实验处理均严格遵循深圳大学实验动物福利与伦理委员会相关指南要求 (伦理审查号: 2014-167)。

1.2 主要试剂与仪器

蜂毒肽 (分子式: Gly-Ile-Gly-Ala-Val-Leu-Lys-Val-Leu-Thr-Thr-Thr-Gly-Leu-Ile-Ser-Trp-Ile-Lys-Arg-Lys-Arg-Gln-Gln-NH₂, 浓度 98%,北京中科亚光生物科技有限公司合成);牛 II 型胶原 (批号: C7806, 美国 Sigma 公司);完全弗氏佐剂 (批号: F5881, 美国 sigma 公司);不完全弗氏佐剂 (批号: F5506, 美国 sigma 公司); Anti-Rat CD4 FITC、Anti-Rat CD25 APC、Anti-Mouse/Rat IL-17 A PE、Anti-Mouse/Rat Foxp3 PE、Foxp3/Transcription Factor Staining B、Cell Stimulation Cocktail、Intracellular Fixation & Permeabilization Buffer、Flow Cytometry Staining Buffer (批号分别为: 11-0040-82、85-17-0390-82、12-

7177-81、85-12-5773-82、00-5523-00、00-4970-03、88-8824-00、00-4222-26, 美国 Ebioscience 公司); 抗大鼠 TNF- α 血清 ELISA 试剂盒(批号: 4AA171420, 北京四正柏公司); 抗大鼠 IL-17 A、IL-10 血清 ELISA 试剂盒(批号: BMS635、BMS629, 美国 Ebioscience 公司), MTS 试剂(G1112, 美国 Promega 公司)。流式细胞仪 RACS CALibur(美国 BD Biosciences 公司); 全波长酶标仪 Multiskar(美国 Thermo 公司); 二氧化碳细胞培养箱 INC108(德国 Memmert 公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 动物模型建立

将 II 型牛胶原溶于 0.01 mmol/L 醋酸, 配置成 4 mg/mL 牛 II 型胶原溶液; 再将配置好的牛 II 型胶原与等体积的完全弗氏佐剂充分混匀成油包水乳剂用于造模。同时另外将配置好的牛 II 型胶原与等体积的不完全弗氏佐剂充分混匀成油包水乳剂用于激发。将 30 只雌性大鼠分为空白对照组(6 只)、模型组(24 只), 第 1 天在模型组大鼠尾根部 1 cm 皮下注射牛 II 胶原与弗氏佐剂乳剂每只 150 μ L(含牛 II 型胶原每只 0.3 mg), 第 10 天再次注射配置好的 II 胶原与不完全弗氏佐剂乳剂每只 50 μ L(含牛 II 型胶原每只 0.1 mg), 建立胶原诱导关节炎模型(collagen-induced arthritis, CIA)。正常对照组 6 只大鼠用同样方法注入等量灭菌注射用水。

1.3.2 药物治疗

第 14 天统计关节肿胀评分, 取关节肿胀评分大于 4 分的大鼠共 18 只, 同评分的动物按随机分配原则分为模型组、蜂毒肽组、甲氨蝶呤组, 每组各 6 只。蜂毒肽组(0.5 mg/kg, 溶于灭菌注射用水, 腹腔注射, 隔日 1 次), 甲氨蝶呤组(每只 1 mg, 溶于灭菌注射用水, 腹腔注射, 每周 1 次, 共 3 次), 模型组注射等量灭菌注射用水, 第 32 天麻醉处理, 心脏穿刺取血, 脱颈处死。

1.3.3 标本采集及处理

心脏穿刺取血 5 mL, 4 $^{\circ}$ C 静置 30 min, 3500 r/min 离心 10 min, 取血清, 放置 -80 $^{\circ}$ C 冰箱保存, 待测; 超净工作台分离出大鼠脾脏, 剪少量脾脏组织, 放入尼龙网中, 加入适量淋巴细胞分离液, 充分碾磨脾组织至无块状物, 尼龙网过滤, 加入 1640 培养基, 放入离心机(20 $^{\circ}$ C, 800 r/min)离心 30 min, 吸取淋巴细胞层, 培养基洗涤。

1.3.4 大鼠血清 TNF- α 、IL-10、IL-17 A 检测

采用 ELISA 法检测各组大鼠血清血 TNF- α 、IL-10、IL-17 A 的水平, 具体操作根据试剂盒说明书进行。采用全波长酶标仪(波长为 450 nm)检测吸光度值(A_{450} 值), 绘制标准化曲线, 计算 TNF- α 、IL-10、IL-17 A 含量。

1.3.5 脾脏淋巴细胞活性检测

取分离好的脾脏淋巴细胞, 以 200 μ L 细胞悬液(细胞数约 2×10^5 个)加入 96 孔板中; 细胞培养箱孵育过夜后, 加入 20 μ g/mL 的 collagen 100 μ L, 培养 3 d 后, 加入 20 μ L 的 MTS 试剂, 培养 4 h 后, 采用全波长酶标仪(波长为 450 nm)检测吸光度值(A_{450} 值)。

1.3.6 Th17、Treg 细胞检测

(1) Th17 细胞检测: 取分离好的脾脏淋巴细胞, 稀释至 1×10^8 /mL, 加入培养板中, 加入 2 μ L cell stimulation cocktail, 孵育 16 h。1400 r/min 离心 5 min, 加入 2 mL 培养基, 取 100 μ L 加入流式上样管, 加入 anti-rat-CD4-APC, 4 $^{\circ}$ C 孵育 30 min。离心 5 min, 去上清, 加入 1 mL IC Fixation Buffer, 室温孵育 20 min, 离心 5 min, 去上清, 洗涤两次。再次加入 1 mL IC Fixation Buffer, 避光 4 $^{\circ}$ C 孵育 20 min, 加入 2 mL Permeabilization Buffer 后, 离心 10 min, 弃上清; 100 μ L 破膜缓冲液重悬细胞, 室温孵育 15 min, 离心 5 min, 加入 anti-rat-IL-17 A-PE。4 $^{\circ}$ C 避光孵育 30 min; 1 mL Permeabilization Buffer 混匀后, 离心 5 min, 去上清, 加入 1 mL 流式细胞缓冲液重悬细胞。并上机检测并分析, 应用 Flowjo7. 6.1 分析数据。

(2) Treg 细胞检测: 取分离好的脾脏淋巴细胞, 稀释至 1×10^8 /mL, 取 100 μ L 加入流式上样管, 依次加入 anti-rat-CD4-FITC 和 anti-rat-CD25-APC(说明书剂量), 避光 4 $^{\circ}$ C 孵育 30 min。Flow Cytometry Staining Buffer 1 mL 洗涤后, 1400 r/min 离心 5 min, 弃上清, 加入 1 mL 的 Intracellular Fixation & Permeabilization Buffer, 混匀避光 4 $^{\circ}$ C 孵育 30 min, Flow Cytometry Staining Buffer 1 mL 洗涤; 加入 1 mL 的固定/破膜工作液, 避光 4 $^{\circ}$ C 孵育 20 min。加入 2 mL Permeabilization Buffer 后, 离心 10 min, 弃上清。重悬细胞, 加入 anti-rat-Foxp3-PE, 避光 4 $^{\circ}$ C 孵育 40 min。加入 2 mL Permeabilization Buffer, 离心 10 min, 弃上清, 流式缓冲液重悬细胞, 并上机检测并分析, 应用 Flowjo7. 6.1 分析流式数据。

1.3.7 踝关节 HE 染色

取大鼠双踝关节, 剔除皮肤和脂肪, 固定 24 h,

放入 10% EDTA-2Na 脱钙,隔日 1 次换液,60 d 后分离踝关节;分别脱水,包埋,HE 染色,光镜下观察踝关节病理组织变化。

1.4 统计学方法

所有数据均采用 SPSS 17.0 软件进行统计学处理,所得结果以平均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示。资料满足正态性、方差齐性的多组定量资料比较采用方差分析,不满足正态性或方差不齐的多组定量资料比较采用非参数检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠血清 TNF- α 、IL-10、IL-17 A 浓度

通过 ELISA 检测血清中特异性 TNF- α 、IL-10、IL-17 的浓度,与正常组比较,模型组中 TNF- α 、IL-10、IL-17 A 水平高于正常组($P<0.01$, $P<0.05$, $P<0.05$);与模型组比较,蜂毒肽组、甲氨蝶呤组 TNF- α 、IL-17 A 低于模型组($P<0.01$, $P<0.05$);与模型组比较,蜂毒肽组、甲氨蝶呤组 IL-10 高于模型组(P

<0.05)。(表 1)

2.2 脾脏淋巴细胞活性检测

通过 MTS 法检测脾脏淋巴细胞活性,与正常组比较,模型组单个核细胞活性高于正常组($P<0.01$);与模型组比较,蜂毒肽组、甲氨蝶呤组单个核细胞活性低于模型组($P<0.05$)。(图 1)

2.3 大鼠脾细胞 Th17、Treg 细胞比较

通过流式细胞术检测脾细胞 Th17、Treg 细胞比例,与正常组比较,模型组 Th17 细胞比例高于正常组($P<0.01$);与模型组比较,蜂毒肽组、甲氨蝶呤组 Th17 细胞比例低于模型组($P<0.05$);与模型组比较,蜂毒肽组、甲氨蝶呤组 Treg 细胞比例高于模型组($P<0.01$, $P<0.05$) (图 2)。

2.4 大鼠踝关节 HE 染色

通过 HE 染色,显微镜下观察踝关节病理变化:正常组:可见关节结构完整,单层滑膜组织,无炎性细胞浸润,无滑膜增生和血管翳形成,无骨和软骨破坏;模型组:可见关节结构不完整,大量滑膜组织

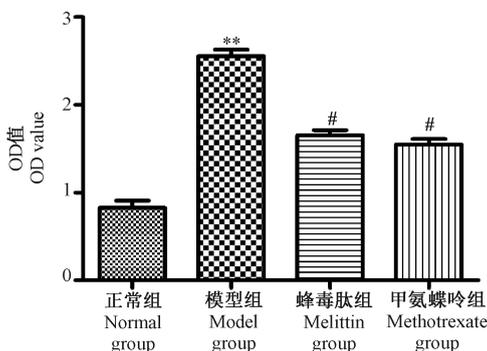
表 1 大鼠血清 TNF- α 、IL-10、IL-17 A 浓度水平的比较($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

Table 1 Comparison of the serum levels of TNF- α , IL-10, and IL-17 A in rat serum

组别 Groups	TNF- α (pg/mL)	IL-10 (pg/mL)	IL-17 A (pg/mL)
正常组 Normal group	156±4.6	35±2.1	62±9.2
模型组 Model group	673±10.3**	93±4.7*	178±8.2*
蜂毒肽组 Melittin group	356±21##	145±5.7#	143±7.6#
甲氨蝶呤组 Methotrexate group	301±14.3##	135±4.6#	123±5.2#

注:与正常组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型组比较,# $P<0.05$,## $P<0.01$ 。

Note. Compared with the normal group,* $P<0.05$,** $P<0.01$. Compared with the model group,# $P<0.05$,## $P<0.01$.



注:与正常组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,# $P<0.05$ 。

图 1 脾脏淋巴细胞活性检测

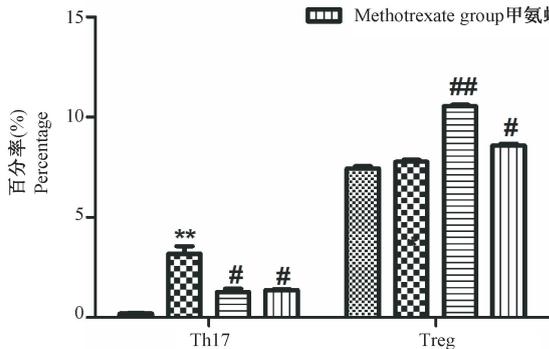
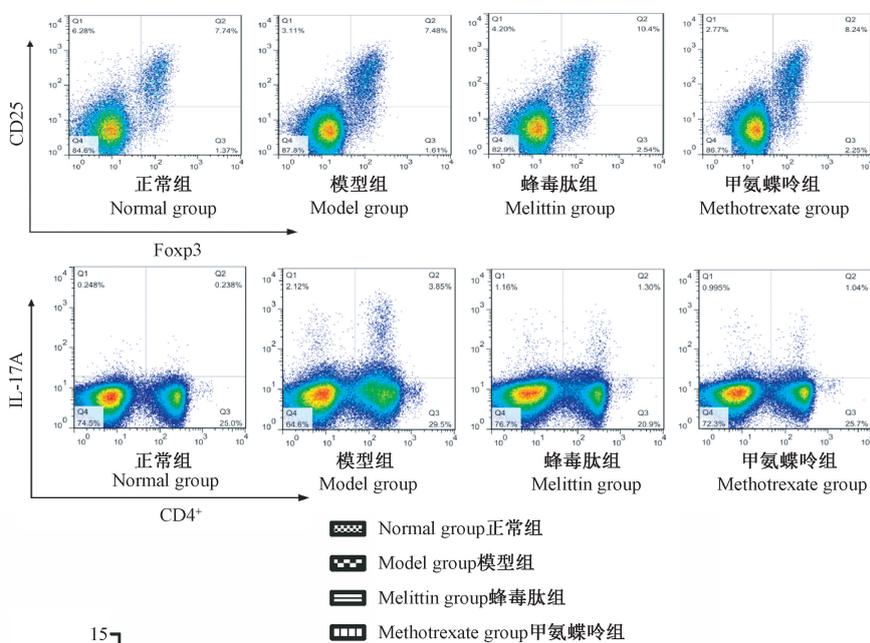
Note. Compared with the normal group,** $P<0.01$. Compared with the model group,# $P<0.05$.

Figure 1 Detection of the splenic lymphocyte activity

增生,大量炎性细胞浸润,明显的骨和关节软骨破坏。蜂毒肽组:可见关节结构不完整,部分的滑膜组织增生及炎症细胞浸润,部分骨和关节软骨破坏。甲氨蝶呤组:可见关节结构完整,部分滑膜组织增生,少量炎性细胞浸润,无明显的血管翳、骨和关节软骨破坏。(图 3)

3 讨论

RA 是一种以周围关节炎为特征的自身免疫性疾病。胶原诱导关节炎模型是最常的类风湿关节炎研究的动物模型^[6]。目前 RA 的病因和发病机制尚未完全明确,蜂毒肽是蜂毒的主要成分,蜂毒肽具有抗炎作用,但对其免疫调节的作用研究知之甚



注:与正常组比较, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, # $P < 0.05$; 与模型组比较, ## $P < 0.01$ 。

图 2 大鼠脾细胞 Th17、Treg 细胞检测

Note. Compared with the normal group, ** $P < 0.01$. Compared with the model group, # $P < 0.05$. Compared with the model group, ## $P < 0.01$.

Figure 2 Detection of Th17/Treg cells among rat spleen cells

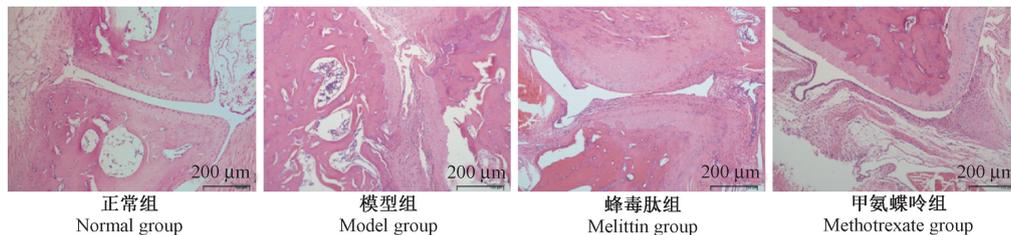


图 3 大鼠踝关节病理检测(HE 染色, $\times 4$)

Figure 3 Pathological changes of the rat ankle joints(HE staining)

少。本研究表明蜂毒肽能抑制胶原诱导关节炎大鼠模型的脾脏淋巴细胞活性,说明蜂毒肽具有抑制免疫作用。

目前 Th17/Treg 细胞平衡成为自身免疫性疾病的研究热点。研究表明类风湿关节炎中如 TNF- α 、IL-10 等炎症介质,激活 T 细胞分化,促进 Th1、

Th17 和 Treg 细胞等 T 淋巴细胞参与关节炎的发病机制^[7]。Th17 细胞分泌的 IL-17 与其他炎症因子促进关节的炎症,并且抑制 Treg 细胞分化。而 Treg 细胞产生 IL-10,能够限制炎症反应引起的组织损伤^[8-9]。IL-10 缺乏能够刺激 Th1 和 Th17 细胞分化,抑制 Treg 细胞分化,导致 RA 疾病的发生^[10]。

因此, Th17/Treg 平衡, 包括 Th17 细胞分泌的促炎症因子和 Treg 细胞分泌的细胞因子, 在类风湿关节炎疾病等自身免疫性疾病中起着非常重要的作用。既往的研究表明在类风湿关节炎中 Th17 细胞明显增加, 而 Treg 细胞则显著减少^[11], 本研究证实模型组大鼠脾脏淋巴细胞中 Treg 细胞的表达下降, Th17 细胞的表达水平升高。在本研究中, 发现蜂毒肽提高了 IL-10 水平, 并在体内增加了 Treg 细胞的分化, 这些结果表明, 蜂毒肽通过促进 IL-10 的表达和促进 Treg 细胞的分化而减弱 CIA 的炎症。同时发现治疗后 IL-17 A、TNF- α 浓度降低, 在 CIA 模型中 Th17 细胞比例减少, 说明蜂毒肽能通过降低 Th17 细胞比例, 减少 CIA 模型炎症。传统的治疗 RA 的经典药物是甲氨蝶呤等免疫抑制剂。该研究表明甲氨蝶呤也能调节 Th17/Treg 细胞的失衡。

类风湿关节炎的病理机制主要是滑膜增生, 形成血管炎, 导致软骨破坏及骨侵蚀。本研究通过观察踝关节病理切片, 发现蜂毒肽能抑制滑膜增生, 本研究发现蜂毒肽能抑制关节炎模型血清炎症因子表达, 说明蜂毒肽可能通过抑制炎症因子改善关节症状。同时发现, 蜂毒肽组踝关节的软骨破坏及骨质侵蚀减少, 而类风湿关节炎中, 骨质破坏与 RANKL 通路及基质金属蛋白酶表达有关^[12], 本课题组推测蜂毒肽可能通过抑制 RANKL 通路等抑制骨质破坏, 这也是下一步将继续探究的方向。

综上所述, 蜂毒肽抑制胶原诱导关节模型炎症因子的表达, 抑制关节滑膜增生及延缓骨质破坏, 同时能上调 Treg 细胞、降低 Th17 细胞起到抑制免疫作用。因此, 本研究提示蜂毒肽可能通过调节 Th17/Treg 细胞平衡来治疗 RA。

参考文献:

[1] Gulati M, Farah Z, Mouyis M. Clinical features of rheumatoid

arthritis[J]. *Medicine*, 2018, 46(4):211-215.

[2] De Souza TR, De ATCA, Duarte ÂP, et al. Th1 and Th2 polymorphisms in Sjögren's syndrome and rheumatoid arthritis [J]. *Oral Pathol Med*, 2014, 43(6):418-426.

[3] Van Hambarg JP, Tas SW. Molecular mechanisms underpinning T helper 17 cell heterogeneity and functions in rheumatoid arthritis.[J]. *J Autoimmun*, 2017, 87:69-81.

[4] van den Berg WB, McInnes IB. Th17 cells and IL-17 a-focus on immunopathogenesis and immunotherapeutics[J]. *Semin Arthritis Rheum*, 2013, 43(2):158-170.

[5] Liu KS, Fan XQ, Zhang L, et al. Effects of recombinant human interleukin-10 on Treg cells, IL-10 and TGF- β in transplantation of rabbit skin[J]. *Mol Med Rep*, 2014, 9(2):639-644.

[6] 施佳君, 陈方明, 马全鑫, 等. 胶原诱导 Wistar 和 Lewis 大鼠类风湿关节炎模型病理特点的比较[J]. *中国比较医学杂志*, 2018, 28(04):19-26+37.

[7] Kelepouri D, Mavropoulos A, Bogdanos DP, et al. The role of flavonoids in inhibiting Th17 responses in inflammatory arthritis. [J]. *J Immunol Res*, 2018, 2018(13):1-11.

[8] Isailovic N, Daigo K, Mantovani A, et al. Interleukin-17 and innate immunity in infections and chronic inflammation [J]. *J Autoimmun*, 2015, 60:1-11.

[9] Liu B, Tonkonogy SL, Sartor RB. Antigen-presenting cell production of IL-10 inhibits T-helper 1 and 17 cell responses and suppresses colitis in mice. [J]. *Gastroenterology*, 2011, 141(2):653-662.e4.

[10] Chaudhry A, Samstein R, Treuting P, et al. Interleukin-10 signaling in regulatory T cells is required for suppression of Th17 cell-mediated inflammation [J]. *Immunity*, 2011, 34(4):460-462.

[11] Niu Q, Cai B, Huang ZC, et al. Disturbed Th17/Treg balance in patients with rheumatoid arthritis[J]. *Rheumatol Int*, 2012, 32(9):2731-2736.

[12] Tanaka Y, Ohira T. Mechanisms and therapeutic targets for bone damage in rheumatoid arthritis, in particular the RANK-RANKL system[J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2018, 40:110-119.

[收稿日期] 2018-07-24