· 基础研究 ·

滋肾通络方干预小鼠 Th17 细胞分化和活性的作用研究

杨 培 范瑶婕 张明菲 王 祥 周玲玲

摘要 目的 观察滋肾通络方(ZTF)对小鼠 Th17 细胞分化和活性的干预作用,探讨其抗类风湿关节炎的可能机制。**方法** 制备 ZTF 冻干粉及含药血清,磁珠分选法提取 C57BL/6 小鼠脾细胞中的 $CD4^+$T 细胞进行体外培养,采用 CCK-8 法筛选 ZTF 冻干粉及含药血清对 $CD4^+$T 细胞活力影响的最佳浓度;另取体外培养的 $CD4^+$T 细胞,随机分为空白对照组、ZTF 冻干粉 0.5、1、2 mg/mL 组、普通大鼠血清对照组、ZTF 含药血清 5%、10%、15%浓度组。ELISA 法检测细胞上清 IL-17 含量;q-PCR 检测 IL-17、维甲酸相关核孤儿受体 γt(ROR-γt)mRNA 表达水平。**结果** 与对照组比较,ZTF 冻干粉各剂量组和含药血清 10%、15%浓度组细胞上清 IL-17 水平降低($P<0.05$),ZTF 冻干粉 2 mg/mL 组及含药血清各浓度组 IL-17 mRNA 水平降低($P<0.05$),同时 ZTF 冻干粉 1、2 mg/mL 组及含药血清不同浓度组细胞 ROR-γt mRNA 水平降低($P<0.05$)。**结论** ZTF 冻干粉及其含药血清均可抑制 Th17 细胞的分化和活性,提示其活性成分具有对 Th17 细胞的直接干预作用,这可能是其防治类风湿关节炎的机制之一。

关键词 滋肾通络方;类风湿关节炎;冻干粉;含药血清;Th17 细胞

Effects of Zishen Tongluo Formula on Differentiation and Activity of Th17 Cells in Mice

YANG Pei, FAN Yao-jie, ZHANG Ming-fei, WANG Xiang, and ZHOU Ling-ling *Jiangsu Key Laboratory for Pharmacology and Safety Evaluation of Chinese Materia Medica*, *College of Pharmacy*, *Nanjing University of Chinese Medicine*, *Nanjing* (*210023*)

ABSTRACT Objective To observe the effects of Zishen Tongluo Formula (ZTF) on Th17 cells and further elucidate the potential mechanism of ZTF on rheumatoid arthritis (RA). **Methods** After preparation of ZTF freeze-dried powder and drug-containing serum, $CD4^+$T cells were isolated from splenocytes of C57BL/6 mice by magnetic cell sorting with mouse anti-CD4 microbeads. The effects of ZTF freeze-dried powder and drug-containing serum on $CD4^+$T cell viability were evaluated by the CCK8 method to determine the optimal concentrations. Besides, cultured $CD4^+$T cells *in vitro* were randomly divided into the control group, the 0.5, 1 and 2 mg/mL ZTF freeze-dried powder groups, the normal rat serum group, the 5%, 10% and 15% ZTF containing serum groups. The level of IL-17 was detected by ELISA. The expression of IL-17 mRNA and ROR-γt mRNA were measured by q-PCR. **Results** Compared with the control group, ZTF freeze-dried powder, 10% and 15% ZTF containing serum markedly decreased the levels of IL-17 in the supernatants ($P<0.05$). The expression of IL-17 mRNA were significantly inhibited by 2 mg/mL ZTF freeze-dried powder and ZTF containing serum groups, together with the low levels of ROR-γt mRNA in 1,2 mg/mL ZTF freeze-dried powder groups and ZTF containing serum groups ($P<0.05$). **Conclusions** Both ZTF freeze-dried powder and its drug-containing serum could inhibit the differentiation and activity of Th17 cells. It suggested that the active ingredients of ZTF have direct effects on Th17 cells, which may be one of its mechanisms for RA treatment.

KEYWORDS Zishen Tongluo Formula; rheumatoid arthritis; freeze-dried powder; drug-containing serum; Th17 cells

基金项目:国家自然科学基金面上项目(No. 81673937);江苏省研究生科研与实践创新计划(No. KYCX19_1326)

作者单位:南京中医药大学药学院 江苏省中药药效与安全性评价重点实验室(南京 210023)

通讯作者:周玲玲, Tel:025-85811515, E-mail:linglingzhou_njucm@163.com

DOI:10.7661/j.cjim.20200614.072

中国中西医结合杂志

类风湿关节炎(rheumatoid arthritis,RA)是一种慢性自身免疫性疾病,其表现为免疫稳态的全面失衡,可导致关节、心血管等多系统病变。$CD4^+$辅助性 T 细胞($CD4^+$ T helper cells,Th cells)在适应性免疫应答中发挥重要作用,Th17 细胞是初始 $CD4^+$ T 细胞分化的主要细胞亚群之一,可分泌 IL-17A、IL-17F、IL-21、IL-22、IL-6 等细胞因子发挥效应功能[1-3]。Th17 细胞的异常活化及其分泌的细胞因子可促进 RA 的发生发展,干预 Th17 细胞的分化和活性可能为 RA 治疗提供新的策略[4, 5]。

滋肾通络方(Zishen Tongluo Formula,ZTF)是根据国医大师周仲瑛教授治疗 RA 的临床验方精简而成,具有滋肾养阴、祛风除湿、化痰祛瘀的功效,实验研究结果表明其对小鼠胶原性关节炎(collagen induced arthritis,CIA)的防治效果与原方相当[6, 7]。本项目组前期研究发现 ZTF 对 RA 全身和骨免疫失衡呈现良好的整体调节作用;另外,ZTF 对 CIA 小鼠外周血和脾脏 Th17 细胞分化和分泌功能具有良好的抑制作用[8]。在前期研究基础上,本研究分离和培养小鼠 $CD4^+$ T 细胞,分别观察 ZTF 冻干粉和含药血清对其向 Th17 细胞分化和分泌活性的干预作用,为进一步探讨 ZTF 治疗 RA 的分子机制、指导临床合理组方用药奠定基础。

材料与方法

1　动物　雄性 SD 大鼠,SPF 级,7~8 周龄,体重(200 ± 20)g;C57BL/6 雄性小鼠,SPF 级,6~8 周龄,18~22 g。实验动物均来自南京江宁区青龙山动物繁殖场,动物合格证号 SYXK(苏)2017-0001,实验动物使用许可证号 SYXK(苏)2018-0049。所有动物操作经南京中医药大学动物伦理委员会审核、批准(No. 201807A007)。

2　药物　ZTF 由雷公藤、生地、僵蚕、青风藤、三七五味中药按 15∶15∶10∶15∶3 比例组成。雷公藤、生地黄、三七、青风藤、僵蚕药材均购自安徽亳州中药饮片厂,经南京中医药大学中药鉴定教研室刘圣金副教授鉴定:雷公藤为卫矛科植物雷公藤 *Tripterygium wilfordii* Hook.f.的干燥根;青风藤为防己科植物青藤 *Sinomenium acutum* (*Thunb.*) Rehd. et Wils.的干燥藤茎;生地黄为玄参科植物地黄 *Rehmannia glutinosa* Libosch.的干燥块根;三七为五加科植物三七 *Parmx notoginseng* (Burk.) F.H. Chen 的干燥根和根茎;僵蚕为香蛾科昆虫家蚕 *Bombyx mori* Linnaeus 感染白僵菌 *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuilknt 而致死的干燥体。精密称取上述中药材适量,用 10 倍体积水浸泡 20 min,煎煮 2 次,每次 2 h,过滤,合并滤液,旋转蒸发浓缩成生药质量浓度为 1.115 g/mL。

3　试剂及仪器　刀豆蛋白 A(美国 Sigma 公司,批号:C5275);增强型 CCK-8 试剂盒(碧云天生物技术公司,批号:C0042);红细胞裂解液(江苏凯基生物技术有限公司,批号:KGP1150-KGP1110);Trizol(美国 Life Technologies 公司,批号:15596026);CD4 磁珠(美国 BD 公司,批号:551539);IMag Buffer(美国 BD 公司,批号:552362);小鼠 IL-17 ELISA 试剂盒(杭州联科生物技术有限公司,批号:70-EK217/2-96);RPMI-1640 培养基(美国 Gibco 公司,批号:C11875500BT);胎牛血清(美国 Gibco 公司,批号:10099141);纯水采用 Milli-Q 超纯水制备仪制备。7500 型荧光定量 PCR 仪(美国 ABI 公司);BSA224S-CW 型电子天平(赛多利斯科学仪器有限公司);5417R 型低温离心机(德国 Eppendorf 公司);SyneRgy2 型多功能酶标仪(美国 BioTek 公司);CO_2 培养箱(美国 Thermo 公司)。

4　ZTF 冻干粉及含药血清的制备　ZTF 冻干粉:将 ZTF 水煎剂-40 ℃制冷,-20 ℃保存 2 h,置于冷冻干燥机制成冻干粉,-20 ℃保存备用。使用时,取适量冻干粉,加 PBS 溶解混匀后,用 0.22 μm 微孔滤膜过滤。

ZTF 含药血清[9]:将雄性 SD 大鼠随机分为空白对照组和 ZTF 给药组,每组 6 只,适应性饲养 1 周。通过体表面积换算得出大鼠每天灌胃 ZTF 剂量为 5.22 g/kg[10],空白对照组给予等量 0.9% 氯化钠溶液,每日 1 次,连续给药 1 周。于末次给药 1 h 后,腹腔注射戊巴比妥钠,麻醉大鼠,腹主动脉取血,室温静置 2 h 后,3 000 r/min 离心 15 min,吸取血清,用 0.22 μm 微孔滤膜除菌,56 ℃水浴灭活 30 min 后,放入 -80 ℃冰箱中保存备用。

5　小鼠脾脏 $CD4^+$T 细胞的提取　无菌制备小鼠脾细胞悬液,加红细胞裂解液 5 mL,吹匀,静置 5 min 后,离心(1 500 r/min,10 min),弃上清。加 3~5 mL PBS 清洗细胞后,离心(1 500 r/min,5 min),弃上清,加 1 mL RPMI-1640 培养液重悬,计数。加入 1 mL IMag Buffer,离心(1 500 r/min,5 min,4 ℃),弃上清。加入 CD4 磁珠(每 10^7 个细胞加 50 μL 磁珠),涡旋混匀,室温避光孵育 30 min,加入适量 IMag Buffer 调整细胞浓度为 1×10^7~8×10^7 cell/mL 后,立刻置于 BD 磁珠分选系统 8~10 min,吸去上清。移除 BD 磁珠分选系统,加 1 mL IMag Buffer,吹匀后置于磁珠分选系统

孵育 2 ~ 4 min,吸去上清,重复 1 次。加 2 mL PBS 清洗细胞,离心(1 500 r/min,5 min,4 ℃),弃上清。加 1 mL RPMI-1640 培养液重悬,细胞计数,接种于 24 孔板,置于 37 ℃、5% CO_2 培养。

6 CCK-8 法检测细胞活力 取生长状态良好的 $CD4^+$T 细胞,用 RPMI-1640 培养液调整细胞密度为 2×10^6/mL,接种于 96 孔板,分为空白对照组、ZTF 冻干粉组(浓度分别为 0.125、0.25、0.5、1、2、4 mg/mL)、空白血清组(RPMI-1640+10% 普通大鼠空白血清)、ZTF 含药血清组(含药血清体积分数分别为 5%、10%、15%、20%、30%)。每种药物浓度均设 5 个复孔,每孔 200 μL,并加入刀豆蛋白 A(终浓度为 5 μg/mL)于 37 ℃、5% CO_2 培养 24 h 后,每孔加入 20 μL CCK-8 溶液,继续孵育 0.5~3 h。采用酶标仪于 450 nm 处测各孔吸光度值(A),并计算细胞活力,筛选出合适的给药浓度。

7 ELISA 法检测细胞上清液中细胞因子 IL-17 的水平 取“5”中细胞,随机分为空白对照组、ZTF 冻干粉组低、中、高剂量组、普通血清对照组、ZTF 含药血清低、中、高浓度组,并给予不同药物,培养 24 h 后,收集细胞上清。根据操作说明书检测上清中 IL-17 的含量,并应用酶标仪于 450 nm 和 570 nm 双波长检测各孔 A 值。校准后的 A 值为 450 nm 的测定值减去 570 nm 的测定值。绘制标准曲线,计算各样品 IL-17 水平(pg/mL)。

8 q-PCR 检测 IL-17、维甲酸相关核孤儿受体 γt(retinoic acid-related orphan receptor gammat, ROR-γt)mRNA 表达 取“5”中细胞,随机分为空白对照组、ZTF 冻干粉组低、中、高剂量组、普通血清对照组、ZTF 含药血清低、中、高浓度组,并给予不同药物,培养 24 h 后,采用 Trizol 法提取 $CD4^+$T 细胞中 RNA。将 RNA 反转录为 cDNA,并采取 q-PCR 反应测定 IL-17、ROR-γt mRNA 表达。以 GAPDH 为内参。引物序列见表 1。

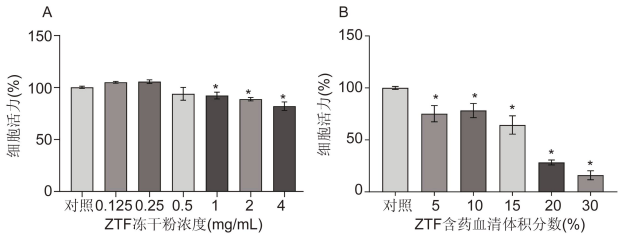
表 1 引物序列

引物名称	引物序列	产物长度(bp)
IL-17	上游:5′-CTGTGTCTCTGATGCTGTTGC-3′	199
	下游:5′-GTGGAACGGTTGAGGTAGTCT-3′	
ROR-γt	上游:5′-CAGTATGTGGTGGAGTTTGCCAAG-3′	124
	下游:5′-TGTAGGCCCTGCACATTCTGAC-3′	
GAPDH	上游:5′-AGGTCGGTGTGAACGGATTTG-3′	123
	下游:5′-TGTAGACCATGTAGTTGAGGTCA-3′	

9 统计学方法 采用 SPSS 22.0 软件进行统计处理,GraphPad Prism 8.0 软件对结果进行作图,所有数据采用 $\bar{x}\pm s$ 表示。采用单因素方差分析进行组间比较,$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

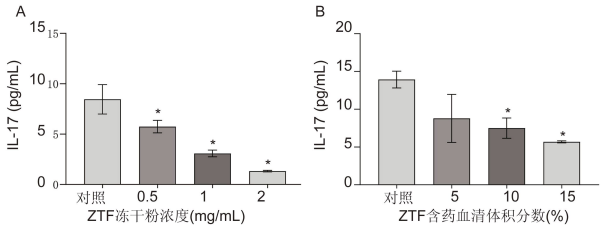
1 ZTF 冻干粉和含药血清对 $CD4^+$T 细胞增殖的影响(图 1) 与对照组比较,当 ZTF 冻干粉浓度为 1~4 mg/mL 时,ZTF 冻干粉对 $CD4^+$T 细胞的抑制作用逐渐增强($P<0.05$);体积分数为 5% ~30% ZTF 含药血清均可显著抑制 $CD4^+$T 细胞活力($P<0.05$),因此选用对 $CD4^+$T 细胞抑制作用较小的 0.5、1、2 mg/mL ZTF 冻干粉和 5%、10%、15% ZTF 含药血清作为后续实验的给药浓度。



注:A 为 ZTF 冻干粉对 $CD4^+$T 细胞增殖的影响;B 为 ZTF 含药血清对 $CD4^+$T 细胞增殖的影响;与对照组比较,* $P<0.05$

图 1 ZTF 冻干粉和含药血清对 $CD4^+$T 细胞增殖的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=5$)

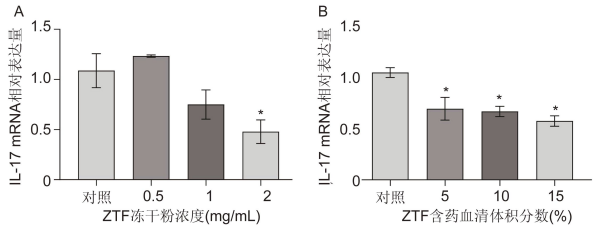
2 ZTF 冻干粉和含药血清各组 IL-17 水平比较(图 2) 与对照组比较,ZTF 冻干粉组能够显著降低细胞上清中 IL-17 的水平,且具有剂量依赖性($P<0.05$)。ZTF 含药血清 10%、15%浓度处理的细胞上清中 IL-17 水平与对照组比较显著降低($P<0.05$)。



注:A 为 ZTF 冻干粉各组 IL-17 水平比较;B 为 ZTF 含药血清各组 IL-17 水平比较;与对照组比较,* $P<0.05$

图 2 ZTF 冻干粉和含药血清各组 IL-17 水平比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=5$)

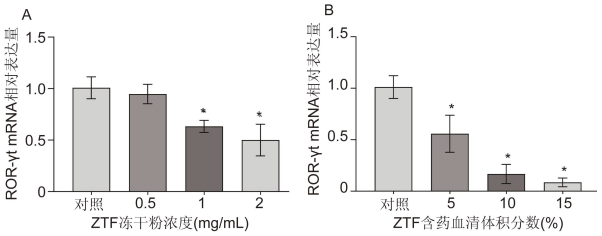
3 ZTF 冻干粉和含药血清各组 IL-17 mRNA 表达水平比较(图 3) 与对照组比较,ZTF 冻干粉 2 mg/mL 组 IL-17 mRNA 相对表达量显著降低($P<0.05$);ZTF 含药血清不同浓度组 IL-17 mRNA 表达较对照组均显著降低,且具有浓度依赖性($P<0.05$)。



注：A 为 ZTF 冻干粉各组 IL-17 水平比较；B 为 ZTF 含药血清各组 IL-17 水平比较；与对照组比较，* P<0.05

图 3　ZTF 冻干粉和含药血清各组 IL-17 mRNA 表达水平比较　（$\bar{x}\pm s$，n=5）

4　ZTF 冻干粉和含药血清各组 ROR-γt mRNA 表达水平比较（图 4）　与对照组比较，ZTF 冻干粉 1、2 mg/mL 组细胞 ROR-γt mRNA 相对表达量显著降低，且具有明显的量效关系（P<0.05）。ZTF 含药血清不同浓度组细胞 ROR-γt mRNA 相对表达量显著降低，且具有一定的浓度依赖性（P<0.05）。



注：A 为 ZTF 冻干粉各组 ROR-γt 水平比较；B 为 ZTF 含药血清各组 ROR-γt 水平比较；与对照组比较，* P<0.05

图 4　ZTF 冻干粉和含药血清各组 ROR-γt mRNA 表达水平比较　（$\bar{x}\pm s$，n=5）

讨　论

RA 是临床常见的慢性自身免疫性疾病，其病情易反复，临床表现为滑膜细胞增生，淋巴细胞、成纤维细胞样滑膜细胞浸润骨表面，导致严重的软骨侵蚀、骨破坏、骨丢失以及关节周围血管翳的形成[11]。RA 发病机制目前尚不清楚，遗传、感染、环境及免疫等因素都会影响 RA 的发生发展[12-14]。近年来，研究发现 $CD4^+$ T 细胞的异常活化导致的免疫紊乱已成为 RA 病情反复发作的关键因素[15]。而 Th17 细胞是一种新发现的 $CD4^+$ T 细胞亚群，在 RA 患者中存在异常活化的现象[16]。Th17 细胞能够分泌大量 IL-17，进而诱导 IL-6、TNF-α、IL-1β 等多种促炎因子的产生，促进 RA 的组织病理损伤[17,18]。同时，Th17 细胞能够诱导成骨细胞、滑膜成纤维细胞上 RANKL 的表达，诱导破骨细胞生成；另一方面，Th17 细胞分泌的 IL-17 能够直接诱导破骨细胞生成，从而诱发骨吸收，直接导致骨破坏[19]。拮抗 IL-17 能够促进成骨细胞功能，并延缓骨吸收和骨丢失的过程[20]。ROR-γt 是 Th17 细胞分化的特征性转录因子，在 TGF-β 和 IL-6/IL-21 的刺激下，STAT3 信号通路被激活，磷酸化的 STAT3 能上调 ROR-γt 的表达，从而促进初始 $CD4^+$ T 细胞分化为 Th17 细胞[21]。而 ROR-γt 选择性抑制剂地高辛，可以抑制 $CD4^+$T 细胞分化为 Th17 细胞[22]，因此 ROR-γt mRNA 的表达水平可作为反映 Th17 分化的重要指标。

目前，西医临床对 RA 的治疗侧重于抑制炎症反应和自身免疫亢进，但药物存在个体性反应差异及不良反应[23]。ZTF 是国医大师周仲瑛教授临床治疗 RA 的验方——清络通痹方的精简方，课题组前期研究证实了 ZTF 治疗 RA 的有效性和安全性，并发现其对 CIA 小鼠循环和免疫器官 Th17 细胞分化和功能具有显著的抑制作用[8]。已有的研究也显示 ZTF 方中雷公藤、青风藤、三七等的活性组分能显著抑制模型动物 Th17 细胞的活性[24-26]，但对 Th17 细胞分化和活性的直接作用研究还有欠缺。为此，本研究采用 ZTF 冻干粉及含药血清，通过体外实验探究其对 Th17 细胞分化和活性的影响，从而全面评价其对 Th17 细胞的作用。

研究结果表明：ZTF 冻干粉在不影响 $CD4^+$ T 细胞活力的情况下，能不同程度抑制 ROR-γt、IL-17 mRNA 的表达，降低炎症因子 IL-17 的分泌，提示 ZTF 对体外培养的 Th17 细胞的分化和分泌功能具有直接的抑制作用。同时本研究制备了 ZTF 的含药血清进行实验，结果表明，ZTF 含药血清对 Th17 细胞的分化和分泌功能也具有较强的抑制作用，其效应具有良好的浓度依赖性。一定浓度的含药血清对 Th17 的分化和活性的影响趋势与冻干粉一致，提示 ZTF 的活性组分可对 Th17 细胞产生直接的干预作用，其可能通过抑制 Th17 细胞分化和活性，调节 RA 的免疫平衡而发挥抗 RA 作用。进一步研究 ZTF 调控 Th17 细胞的机制及效应物质基础，可能有利于揭示 ZTF 治疗 RA 的分子生物学机制。含药血清与实验对象的内环境相一致，可排除其他因素的影响，在中药复方作用机制的研究中，其实验结果能较好地反映药物在体内的作用特点[27,28]，有利于体内外研究结果的综合分析，也有利于进一步明确含药血清的效应成分，阐明其治疗 RA 的物质基础。因此，在今后体外实验研究中可以选用 ZTF 含药血清，从而保证体外研究结果可靠，为 ZTF 的作用机制研究提供方法学上的参考。

利益冲突：本实验中使用药物均出自课题经费，无其他药商及机构赞助，不存在利益冲突。

参 考 文 献

[1] Penatti A, Facciotti F, De Matteis R, et al. Differences in serum and synovial CD4$^+$ T cells and cytokine profiles to stratify patients with inflammatory osteoarthritis and rheumatoid arthritis [J]. Arthritis Res Ther, 2017, 19(1): 103.

[2] Hirota K, Hashimoto M, Ito Y, et al. Autoimmune Th17 cells induced synovial stromal and innate lymphoid cell secretion of the cytokine GM-CSF to initiate and augment autoimmune arthritis [J]. Immunity, 2018, 48(6): 1220-1232.

[3] Park H, Li Z, Yang XO, et al. A distinct lineage of CD4$^+$ T cells regulates tissue inflammation by producing interleukin 17 [J]. Nat Immunol, 2005, 6(11): 1133-1141.

[4] Kim J, Kang S, Kim J, et al. Elevated levels of T helper 17 cells are associated with disease activity in patients with rheumatoid arthritis [J]. Ann Lab Med, 2013, 33(1): 52-59.

[5] Fragoulis GE, Siebert S, McInnes IB. Therapeutic targeting of IL-17 and IL-23 cytokines in immune-mediated diseases [J]. Annu Rev Med, 2016, 67: 337-353.

[6] 朱亚梅, 周玲玲, 袁玉丽, 等. 清络通痹方与精简方的药效学比较研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(18): 99-103.

[7] Liu TY, Zhou LL, Zhou C, et al. Inhibition mechanism of Qingluo Tongbi Granule on osteoclast differentiation induced by synovial fibroblast and monocytes co-culture in adjuvant-induced arthritic rats [J]. Chin J Integr Med, 2015, 21(4): 291-298.

[8] 钱飞亚, 杨培, 张明菲, 等. 滋肾通络方对胶原性关节炎小鼠 Th17/Treg 细胞分化及平衡的影响 [J]. 中国药理学通报, 2019, 35(5): 720-726.

[9] 郭亚春, 高亚贤, 宋鸿儒. 薯蓣皂苷片含药血清对 IL-17 和 TNF-α 诱导大鼠滑膜细胞株 RSC-364NF-κB p65、STAT3 及 VEGF 影响的实验研究[J]. 中国中西医结合杂志, 2013, 33(6): 814-818.

[10] 赵伟, 孙国志. 不同种实验动物间用药量换算[J]. 畜牧兽医科技信息, 2010, (5): 52-53.

[11] Shaw AT, Gravallese EM. Mediators of inflammation and bone remodeling in rheumatic disease [J]. Semin Cell Dev Biol, 2016, 49: 2-10.

[12] Deane KD, Demoruelle MK, Kelmenson LB, et al. Genetic and environmental risk factors for rheumatoid arthritis [J]. Best Pract Res Clin Rheumatol, 2017, 31(1): 3-18.

[13] Alpizar-Rodriguez D, Finckh A. Environmental factors and hormones in the development of rheumatoid arthritis [J]. Semin Immunopathol, 2017, 39(4): 461-468.

[14] Karami J, Aslani S, Jamshidi A, et al. Genetic implications in the pathogenesis of rheumatoid arthritis; an updated review [J]. Gene, 2019, 702: 8-16.

[15] 李凡, 张升校, 李媛, 等. CD4$^+$T 细胞亚群在类风湿关节炎发病机制中的研究进展[J]. 中国药物与临床, 2018, 18(10): 1721-1723.

[16] 王梅, 李鸿斌. Th17 细胞及其在类风湿性关节炎中的作用[J]. 医学综述, 2012, 18(6): 833-836.

[17] Leipe J, Crunke M, Dechant C, et al. Role of Th17 cells in human autoimmune arthritis [J]. Arthritis Rheum, 2010, 62(10): 2876-2885.

[18] Van Hamburg JP, Asmanidjaja PS, Davelaar N, et al. Th17 cells, but not Th1 cells, from patients with early rheumatoid arthritis are potent inducers of matrix metalloproteinases and proinflammatory cytokines upon synovial fibroblast interaction, including autocrine interleukin-17A production [J]. Arthritis Rheum, 2011, 63(1): 73-83.

[19] Kotake S, Yago T, Kobashigawa T, et al. The plasticity of Th17 cells in the pathogenesis of rheumatoid arthritis [J]. J Clin Med, 2017, 6(7): 67.

[20] Uluckan O, Jimenez M, Karbach S, et al. Chronic skin inflammation leads to bone loss by IL-17-mediated inhibition of Wnt signaling in osteoblasts [J]. Sci Transl Med, 2016, 8(330): 330-337.

[21] Wei L, Laurence A, Elias KM. IL-21 is produced by Thl7 cells and drives IL-17 production in a STAT3-dependent manner [J]. J Biol Chem, 2007, 282(48): 34605-34610.

[22] Huh JR, Leung MW, Huang P, et al. Digoxin and its derivatives suppress Th17 cell differentiation by antagonizing RORγt activity[J]. Nature, 2011, 472(7344): 486-490.

[23] Köhler BM, Günther J, Kaudewitz D, et al. Current therapeutic options in the treatment of rheumatoid arthritis[J]. J Clin Med, 2019, 8(7): 938-952.

[24] 王爱利, 王蓓蓓, 罗光伟. 雷公藤甲素通过 IL-10/Th17 细胞调节哮喘小鼠气道炎症[J]. 内科急危重症杂志, 2019, 25(4): 331-334.

[25] 刘伟伟, 高永翔, 赵静, 等. 青藤碱对类风湿性关节炎 Th17 的影响研究进展[J]. 中医临床研究, 2014, 6(6): 137-138.

[26] 赵文娟, 陈静, 邢海晶, 等. 三七总皂苷对哮喘小鼠气道炎性反应及 Th17 细胞因子的影响[J]. 中华中医药杂志, 2015, 30(4): 1310-1312.

[27] 马飞祥, 薛培凤, 王媛媛, 等. 中药血清药物化学研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2017, 42(7): 1265-1270.

[28] 国锦, 高燕, 赵渤年. 中药复方血清药理学研究方法进展 [J]. 中华中医药杂志, 2017, 32(4): 1656-1658.

(收稿: 2019-09-03 在线: 2020-08-10)
责任编辑: 汤 静

中国中西医结合杂志