

# 黄芪糖蛋白对胶原诱导性关节炎小鼠 Th17/Treg 细胞免疫平衡的影响

刘慧 赵俊云 杨向竹 薛慧清 李彩彩 马鑫 张娜 周然

**【摘要】 目的** 研究 16kD 黄芪糖蛋白对胶原诱导性关节炎 (collagen-induced arthritis, CIA) 模型小鼠 Th17/Treg 细胞免疫平衡的影响,探讨黄芪糖蛋白治疗胶原诱导性关节炎小鼠的免疫作用机理。**方法** 采用雄性 Balb/c 小鼠建立牛Ⅱ型胶原诱导性关节炎小鼠模型,将造模成功的小鼠随机分为 CIA 模型组、氢化可的松阳性对照组、黄芪糖蛋白高、中、低剂量组,另设空白对照组;各治疗组腹腔注射药物 14 天,对照组与模型组注射等体积生理盐水。采用流式细胞术检测各组小鼠外周血 CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>IL-17A<sup>+</sup>Th17 细胞、CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>Treg 细胞比例;Western blot 法检测各组小鼠脾组织中维甲酸相关孤儿受体  $\gamma$ t (retinoid-related orphan receptor  $\gamma$ t, ROR $\gamma$ t) 和叉头状转录因子 3 (forkhead box protein 3, Foxp3) 的蛋白表达水平。**结果** 流式检测结果显示,黄芪糖蛋白可显著降低模型组小鼠外周血中 CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>IL-17A<sup>+</sup>Th17 细胞比例 ( $P<0.01$ ),提高 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>Treg 细胞的比例 ( $P<0.01$ )。Western blot 结果显示黄芪糖蛋白可显著降低模型组小鼠脾组织中 ROR $\gamma$ t 的表达 ( $P<0.01$ ),提高 Foxp3 的表达 ( $P<0.01$ )。**结论** 黄芪糖蛋白提高 Foxp3 的表达水平,降低 ROR $\gamma$ t 的表达水平,恢复 Th17/Treg 细胞之间的平衡,可能是黄芪糖蛋白治疗胶原诱导性关节炎小鼠的机制之一。

**【关键词】** 黄芪糖蛋白; ROR $\gamma$ t; Foxp3; 胶原诱导性关节炎小鼠

**【中图分类号】** R285 **【文献标识码】** A doi:10.3969/j.issn.1674-1749.2016.12.004

**Influences of AmGP on Th17/Treg immune balance in CIA mice** LIU Hui, ZHAO Jun-yun, YANG Xiang-zhu, et al. School of Basic Medical Science, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China

Corresponding author: YANG Xiang-zhu, E-mail:xiangzhuy@126.com

基金项目: 国家国际科技合作专项(2013DFA30700)

作者单位: 100029 北京中医药大学基础医学院[刘慧(硕士研究生)、赵俊云、杨向竹、李彩彩(硕士研究生)、马鑫、张娜];山西中医学院科研中心(薛慧清、周然)

作者简介: 刘慧(1989-),女,2014 级在读硕士研究生。研究方向:16kD 黄芪糖蛋白作用于 CIA 小鼠的免疫作用机理。E-mail:13671081286@163.com

通讯作者: 杨向竹(1970-),女,博士,副教授,硕士生导师。研究方向:中药的现代物质基础。E-mail:xiangzhuy@126.com

**【Abstract】 Objective** To examine the impacts of 16kD astragalus membranaceus glycoprotein (AmGP) on the balance of Th17/Treg in CIA mice; and to investigate the effects of AmGP on CIA mice and its' mechanism. **Methods** Bovine type II collagen was used to establish CIA model. Mice were randomly divided into five groups: CIA model group, hydrocortisone(HC) positive control group, AmGP groups with low, medium and high dose. In addition, a normal group was built. The HC and AmGP groups were treated by HC or AmGP with intraperitoneal injection, while normal saline was used in the other groups, and the treatment was lasted for 2 weeks. Flow cytometry was used to detect the proportions of CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>IL-17A<sup>+</sup>Th17 and CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>Treg cells in peripheral blood of the mice; The protein expressions of ROR $\gamma$ t and Foxp3 were evaluated by western blot in mice spleen. **Results** It is showed that AmGP could significantly reduce the proportion of CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>IL-17A<sup>+</sup>Th17 in peripheral blood of CIA mice ( $P<0.01$ ). It could improve the proportion of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>Treg cells ( $P<0.01$ ). Western blot results indicated that AmGP could significantly decrease the expression of ROR $\gamma$ t ( $P<0.01$ ), while increase the expression of Foxp3 in spleen of CIA mice ( $P<0.01$ ). **Conclusion** AmGP recovers the balance of Th17/Treg cells by improving the expressions of Foxp3, and reducing the expression of ROR $\gamma$ t. This procedure may be one of the mechanisms for AmGP to cure the CIA mice.

**【Key words】** Astragalus membranaceus glycoprotein; ROR $\gamma$ t; Foxp3; CIA

类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是以多关节滑膜炎、骨及软骨破坏为主要特征的慢性自身免疫性疾病,致残率极高<sup>[1]</sup>。到目前为止,虽然 RA 的病因及发病机制尚不明确,但 T 细胞功能紊乱,尤其是 CD4<sup>+</sup>T 细胞异常活化,在 RA 的发展中处于中心环节<sup>[2]</sup>。黄芪为传统补中益气中药,具有补气升阳、固表止汗等多种功效。本课题组通过水浸提法自膜荚黄芪的干燥根中分离出一种糖蛋白均一组分,即黄芪糖蛋白,进而从黄芪糖蛋白中分离纯化出一种 16kD 组分,命名为 AmRP10-16<sup>[3]</sup>。笔者团队前期研究发现,黄芪糖蛋白具有一定免疫抑制作用,且可改善佐剂性关节炎大鼠的关节炎症<sup>[4-5]</sup>。本实验以胶原诱导性关节炎(collagen-induced arthritis, CIA)模型小鼠为研究对象,予 16kD AmGP 腹腔注射给药,以 Th17/Treg 细胞平衡为切入点研究 16kD 黄芪糖蛋白(astragalus membranaceus glycoprotein, AmGP)对 CIA 小鼠 Th17、Treg 细胞比例及其特异性转录因子维甲酸相关孤儿受体  $\gamma$ t (retinoid-related orphan receptor  $\gamma$ t, ROR $\gamma$ t)和叉头状转录因子 3 (forkhead box protein 3, Foxp3)蛋白表达的影响,探讨 AmGP 治疗 CIA 的免疫作用机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

Balb/c 雄性小鼠,90 只,体质量(18 $\pm$ 2)g,清洁级,购于北京华阜康生物科技股份有限公司,许可

证号:SCXK(京)2014-0004。

### 1.2 主要药物、试剂、仪器

AmGP 为自制;弗氏完全佐剂, Sigma 公司;胶原蛋白 II 型(牛), Chondrex 公司; Anti-ROR $\gamma$ t Purified、Anti-Foxp3 Purified, eBioscience 公司;  $\beta$ -actin、HRP 标记羊抗兔 IgG、HRP 标记羊抗小鼠 IgG, 北京博奥森生物技术有限公司;四甲基乙二胺,北京康为世纪生物科技有限公司;苯甲基磺酰氟、过硫酸铵、Tween-20、分离胶缓冲液、浓缩胶缓冲液、聚偏氟乙烯微孔转移膜、5%脱脂奶粉、Tris、SDS、BCA 蛋白定量试剂盒, Solarbio 公司; Mouse IL-17A PE-Cy7 Antibody、Mouse CD4 FITC Antibody、Anti-Mouse CD25 APC、Anti-Mouse Foxp3 PE、Cocktail (PMA + Ionomycin+BFA), 美国 BioLegend 公司。

JY600C 型电泳仪,北京君益东方电泳设备有限公司;酶联免疫检测仪, Tecan 公司;流式细胞仪, 美国 BD 公司。

### 1.3 实验方法

1.3.1 模型制备 Balb/c 雄性小鼠 80 只,适应性喂养一周,参考文献方法<sup>[6]</sup>,将溶解的 C II 与等体积 CFA 在冰浴中充分乳化,以 0.1 mL/只在小鼠腹部、背部和尾根部多点皮下注射,进行基础免疫,当天记为第 1 天,第 21 天以同样的方法加强免疫。以关节肿胀度评分标准评价模型复制是否成功。

1.3.2 分组及给药 将造模成功的 50 只小鼠随机分为模型组、氢化可的松(hydrocortisone, HC)阳性对照组、黄芪糖蛋白高、中、低剂量组,每组 10

只;基础免疫后第 42 天开始给药治疗;HC 组小鼠腹腔注射 HC 10 mg/kg;AmGP 低、中、高剂量组分别按 0.5 mg/kg、1.0 mg/kg、2.0 mg/kg 腹腔注射 AmGP;正常组、模型组小鼠腹腔注射等体积生理盐水;注射体积均为 0.4 mL/20 g,每天一次,共治疗两周。

1.4 指标检测

1.4.1 关节肿胀度评分 采用 0~4 级关节评分法,关节炎得分计算方法为:0 分,脚趾正常或无炎症;1 分,脚趾关节肿胀或轻度发红;2 分,趾关节和足趾发红并且肿胀;3 分,踝关节以下整个足爪发红并且肿胀;4 分,踝关节严重发红且肿胀,关节有变形迹象。每隔 3 天观察并记录小鼠四肢关节病变情况,四肢关节评分累计之和为每只小鼠的多发性关节炎指数(arthritis index, AI)。AI 值≥4 分表示造模成功。

1.4.2 流式细胞术检测 小鼠外周血 Th17、Treg 细胞比例第 57 天各组小鼠摘眼球取血,流式细胞仪检测小鼠外周血 Th17、Treg 细胞比例,方法完全按照试剂盒说明进行。

1.4.3 Western blot 法检测 脾组织中 ROR $\gamma$ t、Foxp3 蛋白的表达第 57 天处死小鼠,取各组小鼠脾组织,提取总蛋白并采用 BCA 法定量,取总蛋白 40  $\mu$ g 进行 SDS-PAGE 蛋白电泳、转膜、杂交。显影结果采用 Quantity One 软件分析各组条带灰度值,以目标蛋白与内参比值反应脾组织蛋白表达情况。

1.5 统计学处理

应用 SPSS 22.0 统计软件处理数据,计量资料采用均数±标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示。若数据符合正态分布且方差齐,则采用单因素方差分析,两组间的比较采用 LSD 检验;若不符合正态分布或方差不齐,则采用秩和检验,以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CIA 小鼠的一般情况

正常组小鼠在整个实验期间饮食正常,活泼,皮毛光泽;模型组小鼠进行免疫注射后可见食欲下降,体重减轻,皮毛黯淡干枯,并出现轻度脱毛现象,关节红肿畸形,跛行。各药物组小鼠关节红肿均有所减轻,精神状态及饮食较模型组均明显改善。

2.2 CIA 小鼠 AI 值

正常组小鼠足爪关节无红肿现象,AI 值为 0;所

有造模小鼠于基础免疫后第 22 天开始出现关节肿胀、发红等典型改变,并随时间推移逐渐加重,造模小鼠于基础免疫后第 42 天关节炎指数达到高峰,与对照组比较有统计学意义( $P<0.01$ )。随着各给药组的持续用药,AI 值不断降低;其中 HC 组小鼠关节炎指数最小,与模型组比较 AI 值降低明显( $P<0.01$ );AmGP 不同剂量组 AI 值较模型组均有不同程度降低( $P<0.01$ )。结果见图 1。

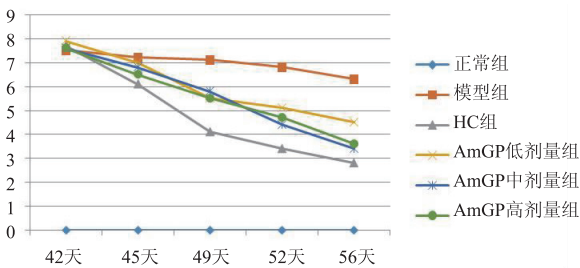


图 1 黄芪糖蛋白对 CIA 小鼠关节炎指数影响的变化趋势

2.3 小鼠外周血 Th17、Treg 细胞比例

与正常组比较,模型组小鼠外周血 Th17 细胞比例升高,Treg 细胞比例降低,差异有统计学意义( $P<0.01$ )。治疗后,与模型组比较,HC 组与 AmGP 各剂量组 Th17 细胞比例不同程度降低,Treg 细胞比例升高,且差异有统计学意义( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ )。见表 1。

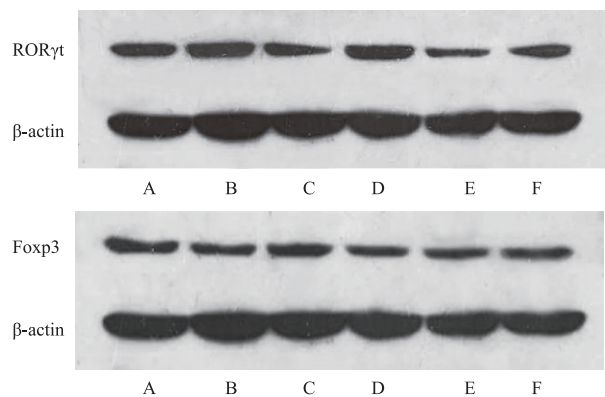
表 1 黄芪糖蛋白对 CIA 小鼠外周血 Th17、Treg 细胞比例的影响( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	Th17 细胞比例	Treg 细胞比例
正常组	10	0.392±0.055	2.068±0.081
模型组	10	0.980±0.223 <sup>a</sup>	1.045±0.135 <sup>a</sup>
HC 组	10	0.543±0.093 <sup>c</sup>	1.846±0.169 <sup>c</sup>
AmGP 低剂量组	10	0.718±0.114 <sup>b</sup>	1.564±0.115 <sup>b</sup>
AmGP 中剂量组	10	0.590±0.203 <sup>c</sup>	1.895±0.221 <sup>c</sup>
AmGP 高剂量组	10	0.607±0.173 <sup>c</sup>	1.808±0.146 <sup>c</sup>

注:与正常组比较,<sup>a</sup> $P<0.01$ ;与模型组相比,<sup>b</sup> $P<0.05$ ,<sup>c</sup> $P<0.01$ 。

2.4 小鼠 ROR $\gamma$ t、Foxp3 蛋白的表达

Western blot 检测结果显示,与正常组比较,模型组 ROR $\gamma$ t 表达升高,Foxp3 表达降低( $P<0.01$ );与模型组比较,HC 组和 AmGP 中、高剂量组 ROR $\gamma$ t 表达降低,Foxp3 表达升高( $P<0.01$ )。数据见表 2,杂交结果如图 2。



注: A. 正常组; B. 模型组; C. HC 组; D. AmGP 低剂量组; E. AmGP 中剂量组; F. AmGP 高剂量组

图 2 黄芪糖蛋白对 CIA 小鼠 RORγt、Foxp3 蛋白表达的影响

表 2 黄芪糖蛋白对 CIA 小鼠脾组织中 RORγt 与 Foxp3 蛋白表达的影响( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	RORγt/β-actin	Foxp3/β-actin
正常组	10	0.328±0.019	0.525±0.016
模型组	10	0.439±0.012 <sup>a</sup>	0.325±0.031 <sup>a</sup>
HC 组	10	0.305±0.069 <sup>b</sup>	0.467±0.038 <sup>b</sup>
AmGP 低剂量组	10	0.421±0.025	0.362±0.012
AmGP 中剂量组	10	0.292±0.088 <sup>b</sup>	0.429±0.061 <sup>b</sup>
AmGP 高剂量组	10	0.341±0.011 <sup>b</sup>	0.448±0.027 <sup>b</sup>

注: 与正常组比较, <sup>a</sup> $P<0.01$ ; 与模型组比较, <sup>b</sup> $P<0.01$ 。

3 讨论

黄芪作为补气药在临床广泛应用于治疗 RA 的多种经方。近年研究表明,黄芪的多种有效成分,如黄芪多糖、黄芪总甙及黄芪黄酮等,具有免疫调节等多种药理作用<sup>[7]</sup>,且用于治疗 RA<sup>[8-10]</sup>。HC 属于肾上腺皮质激素,具有抗感染、抑制免疫等药理作用,是临床治疗 RA 疗效明确的药物,所以本文将其作为阳性对照。本文成功复制小鼠胶原诱导性关节炎模型,以 Th17/Treg 细胞平衡为切入点,探究 AmGP 作用于 CIA 小鼠的可能机制及疗效。

Th17 和 Treg 细胞是 CD4<sup>+</sup>T 细胞的两个亚型。初始 CD4<sup>+</sup>T 细胞在 IL-6 和 TGF-β 的共同作用下,通过激活 JAK-STAT3 途径,诱导 RORγt 基因的表达,促进初始 CD4<sup>+</sup>T 细胞向 Th17 细胞分化;而在 TGF-β 的单独作用下,可通过激活 JAK-STAT5 信号途径,上调 Foxp3 的表达,促使初始 CD4<sup>+</sup>T 细胞分化为 Treg 细胞<sup>[11]</sup>。Th17 细胞可产生促炎因子

IL-17。现已明确 Th17 细胞及其特异性细胞因子 IL-17 在 RA 等自身免疫性疾病中发挥着重要作用<sup>[12]</sup>。IL-17 的促炎效应可诱导破骨细胞和基质金属蛋白酶的产生,促进滑膜炎症、关节与骨的损伤<sup>[13]</sup>。CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg 细胞可特异性表达转录因子 Foxp3,通过分泌 IL-10 和 TGF-β 等抑炎细胞因子发挥抑制 T 细胞及抗原提呈细胞的功能,减少促炎因子和抗体的产生发挥免疫抑制作用。研究表明, Treg 细胞数量减少、功能降低是 RA 患者免疫失调的重要原因<sup>[14]</sup>。由此可知, Th17 和 Treg 细胞具有截然相反的免疫作用, Th17 细胞可促进 RA 等自身免疫病的发生发展,而 Treg 细胞可减轻前者所导致的自身免疫性炎症反应,从而维持机体的免疫平衡状态,因此 Th17/Treg 细胞失衡在 RA 发病中发挥重要作用。

RORγt 是 Th17 细胞的关键转录因子,可特异性地调节 Th17 细胞的分化及功能。Ivanov II 等<sup>[15]</sup>研究表明, RORγt 缺失的动物体内, Th17 细胞数量减少,发生自身免疫疾病的概率降低;同时还表明,无论体内外诱导 Th17 细胞的分化都必须要有转录因子 RORγt 的参与。Foxp3 是 Treg 细胞的标志分子,对 Treg 细胞的分化发育成熟及发挥免疫抑制作用方面起关键作用,也是 Treg 细胞最敏感的标记<sup>[16]</sup>,它与 Th17 的特异性转录因子 RORγt 相互拮抗<sup>[17]</sup>。RORγt/Foxp3 平衡可确定初始 CD4<sup>+</sup>T 细胞在受到抗原刺激后向 Th17 或 Treg 细胞分化的方向<sup>[18]</sup>。因此, RORγt/Foxp3 平衡可从根本上影响 Th17/Treg 细胞平衡,影响 RA 等自身免疫病的发生发展。

临床 RA 患者外周血表达 Foxp3 的 Treg 细胞数量减少<sup>[19]</sup>,而血清及关节液中 IL-17 的表达则明显升高<sup>[20]</sup>。牛倩等<sup>[21]</sup>研究也发现, RA 患者外周血 Th17 细胞比例明显升高,而 Treg 细胞比例明显降低,提示 RA 中存在 Th17/Treg 细胞偏倚。Th17 细胞的促炎作用与 Treg 细胞的抑炎作用在 RA 的发展中发挥重要作用,恢复 Th17/Treg 细胞平衡对治疗 RA 意义重大。

本文以 16kD 黄芪糖蛋白腹腔注射治疗 CIA 小鼠,结果显示,与模型组比较, AmGP 各剂量组小鼠皮毛较光整,饮食、活动度、精神状态均有改善, AI 值降低( $P<0.01$ ),说明 AmGP 可在一定程度上改善 CIA 模型小鼠的关节炎症,抑制病情的发展。本研究结果显示, CIA 组小鼠外周血中 Th17 细胞比例升



高, Treg 细胞比例下降, 与正常组比较差异显著 ( $P < 0.01$ )。同时, CIA 组小鼠的脾组织中 ROR $\gamma$ t 表达明显升高, Foxp3 表达明显降低, 与正常组比较, 差异显著 ( $P < 0.01$ ), 即外周血中 Th17、Treg 细胞的比例变化与其特异性转录因子的表达变化呈现相同的趋势。Foxp3 表达降低, Treg 细胞的发育受到抑制, Treg 细胞分泌的抑炎因子减少, 免疫抑制作用减弱, 同时 ROR $\gamma$ t 表达升高, 则促使 Th17 细胞分化, 其分泌促炎因子也相应增多, Th17/Treg 细胞平衡向 Th17 细胞方向偏倚, 最终导致关节炎的发生。CIA 小鼠经 16kDAmGP 治疗后, 外周血中 Th17 细胞比例降低, Treg 细胞比例升高, 相应的, 脾组织中 ROR $\gamma$ t 表达降低, Foxp3 表达升高, 与模型组比较均有统计学意义 ( $P < 0.01$ ), 说明 16kDAmGP 可通过不同程度促进 Treg 细胞的分化增殖, 抑制 Th17 细胞的分化增殖, 有效地恢复 Th17/Treg 细胞平衡, 使 CIA 模型小鼠的病情逐渐缓解。

16kD 黄芪糖蛋白是本课题组在以往提取的黄芪糖蛋白的基础上进一步分离纯化, 得到的分子量更小的天然糖蛋白活性分子。本文表明, 16kD 黄芪糖蛋白对 CIA 小鼠的治疗作用可能是通过调节 ROR $\gamma$ t、Foxp3 转录因子的表达水平, 进而纠正 Th17/Treg 细胞平衡而实现的。关于 16kD 黄芪糖蛋白的其他免疫活性及量效关系的研究及其对 RA 作用机理的进一步探讨将是下一步的研究方向。

### 参 考 文 献

- [1] 陆再英, 钟南山. 内科学[M]. 7 版. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 848-855.
- [2] Aterido A, Palacio C, Marsal S, et al. Novel insights into the regulatory architecture of CD4+ T cells in rheumatoid arthritis [J]. PLoS One, 2014, 9(6): e100690.
- [3] 陈秀红, 任晋宏, 魏砚明, 等. 正北芪中一种免疫活性蛋白质提取工艺的优选[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, (5): 13-17.
- [4] 杨向竹, 赵俊云, 薛慧清, 等. 黄芪糖蛋白对小鼠脾淋巴细胞的体外作用[J]. 中国药理学杂志, 2011, (23): 1811-1813.
- [5] 赵俊云, 刘亚明, 冯前进, 等. 黄芪糖蛋白对佐剂性关节炎大鼠外周血细胞因子及关节滑膜组织形态学的影响[J]. 上海中医药杂志, 2010, (5): 78-80.
- [6] Sato A, Watanabe K, Kaneko K, et al. The effect of synthetic retinoid, Am80, on T helper cell development and antibody production in murine collagen-induced arthritis [J]. Mod Rheumatol, 2010, 20(3): 244-251.
- [7] 刘德丽, 包华音, 刘杨. 近 5 年黄芪化学成分及药理作用研究进展[J]. 食品与药品, 2014, (1): 68-70.
- [8] 樊婧. 黄芪多糖对 AA 大鼠血清中促炎症与抑炎症细胞因子水平调控的研究[D]. 太原: 山西农业大学, 2013.
- [9] 徐建华, 徐胜前, 帅宗文, 等. 黄芪总甙治疗类风湿关节炎临床研究[J]. 中国药物与临床, 2002, (3): 157-160.
- [10] 李航, 张冲, 王莹, 等. 黄芪总黄酮对小鼠佐剂性关节炎的治疗作用[J]. 安徽农业科学, 2015, (27): 77-78.
- [11] Lina C, Conghua W, Nan L, et al. Combined treatment of etanercept and MTX reverses TH1/TH2, TH17/Treg imbalance in patients with rheumatoid arthritis [J]. Clin Immunol, 2011, 31(4): 596-605.
- [12] Yamada H, Nakashima Y, Okazaki K, et al. Th1 but not Th17 cells predominate in the joints of patients with rheumatoid arthritis [J]. Annals of the Rheumatic Diseases, 2008, 67(9): 1299-1304.
- [13] Church LD, Filer AD, Hidalgo E, et al. Rheumatoid synovial fluid interleukin-17-producing CD4 T cells have abundant tumor necrosis factor-alpha co-expression, but little interleukin-22 and interleukin-23R expression [J]. Arthritis Res Ther, 2010, 12(5): R184.
- [14] Wang Q, Liu J, Wan L. Detection of regulatory CD4+CD25+CD127-T cells in asthma patients and its clinical significance [J]. Anhui Med J, 2010, 31(2): 131-134.
- [15] Ivanov II, McKenzie BS, Zhou L, et al. The orphan nuclear receptor ROR $\gamma$ t directs the differentiation program of proinflammatory IL-17+T helper cells [J]. Cell, 2006, 126(6): 1121-1133.
- [16] Olivito B, Simonini G, Ciullini S, et al. Th17 transcription factor RORC2 is inversely correlated with FOXP3 expression in the joints of children with juvenile idiopathic arthritis [J]. Rheumatol, 2009, 36(9): 2017-2024.
- [17] Bonelli M, von Dalwigk K, Savitskaya A, et al. Foxp3 expression in CD4+T cells of patients with systemic lupus erythematosus: a comparative phenotypic analysis [J]. Annals of Rheumatic Diseases, 2008, 67(5): 664-671.
- [18] Li MO, Flavell RA. TGF- $\beta$ : a master of all T cell trades [J]. Cell, 2008, 134(3): 392-404.
- [19] Wang W, Shao S, Jiao Z, et al. The TH17/Treg imbalance and cytokine environment in peripheral blood of patient with rheumatoid arthritis [J]. Rheumatol Int, 2012, 32(4): 887-893.
- [20] Zizzo G, De Santis M, Bosello SL, et al. Synovial fluid-derived T helper 17 cells correlate with inflammatory activity in arthritis irrespective of diagnosis [J]. Clin Immunol, 2011, 138(1): 107-116.
- [21] 牛倩, 黄卓春, 蔡蓓, 等. 类风湿性关节炎患者外周血 Th17/Treg 细胞比率失衡的研究[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2010, (3): 267-269, 272.

(收稿日期: 2016-05-16)

(本文编辑: 禹佳)