

痰热清注射液对实验性变态反应性脑脊髓炎小鼠炎性因子及炎性损伤影响的研究

樊永平 杨涛 郑琦 王蕾 袁春晓 房玲

【摘要】 目的 观察痰热清注射液对实验性变态反应性脑脊髓炎(experimental allergic encephalomyelitis, EAE)小鼠炎性损伤的影响,应用 HE 染色、ELISA 方法检测炎性浸润程度及炎性因子含量,从组织、分子层面揭示痰热清注射液治疗多发性硬化的科学内涵,为中医治疗多发性硬化提供科学依据。**方法** SPF 级 C57BL/6 雌性小鼠 100 只,将小鼠随机分为正常组,模型组,激素组,痰热清注射液大剂量组,痰热清注射液小剂量组。模型及治疗组注射 MOC₃₅₋₅₅ 抗原乳剂及 PTX 诱导 EAE。免疫当天痰热清注射液组进行腹腔注射治疗,激素组在发病后进行激素灌胃治疗。其余均以生理盐水代替。观察小鼠行为学的变化,在急性期及缓解期取小鼠大脑组织,HE 观察病理组织学改变 ELISA 检测 IL-17A 等炎性因子的表达。**结果** (1)造模各组小鼠从免疫第 8 天开始发病,发病率为 100%,痰热清注射液小剂量组发病潜伏期低于痰热清注射液大剂量组($P < 0.05$)。造模各组在第 21 天达到高峰,模型组最高,神经功能评分达到 2.35。痰热清注射液大剂量组及激素组评分最低,与模型组相比有统计学意义($P < 0.01$)。(2)HE 染色光镜下显示 EAE 模型各组在第 21 天可见大脑内小血管周围炎性细胞浸润和神经细胞核固缩,以第三脑室及侧脑室周围为主,大量的淋巴细胞聚集在血管周围,并形成典型的袖套状改变。第 40 天炎症浸润较第 21 天炎症浸润有所缓和。(3)痰热清注射液对 EAE 小鼠炎性因子的影响:ELISA 统计结果发现:痰热清注射液小剂量组可以有效的抑制 IL-6、IL-10、IL-17A、IL-23、TGF- β 1 多种细胞因子的表达($P < 0.05$)。**结论** 痰热清可以有效的减少 EAE 的炎症反应及炎性因子的表达,从而抑制 EAE 的炎症进程。

【关键词】 多发性硬化; 实验性自身免疫性脑脊髓炎; 痰热清注射液; 炎性因子

【中图分类号】 R285.5 **【文献标识码】** A doi:10.3969/j.issn.1674-1749.2014.07.002

Study on effects of TanReQing injection on inflammatory cytokines and injuries with EAE mice

FAN Yong-ping, YANG Tao, ZHENG Qi, et al. Department of traditional Chinese medicine, Beijing Tian Tan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100050, China

Corresponding author: FAN Yong-ping, E-mail: yongpingf@hotmail.com

【Abstract】 Objective To study the effects of TanReQing injection on inflammatory injuries with experimental autoimmune encephalomyelitis(EAE) mice, we used HE stain and ELISA to detect the inflammatory infiltration and cytokines. This study revealed the scientific connotation of TanReQing injection to treat multiple sclerosis (MS) disease. **Methods** One hundred SPF C57BL/6 female mice were randomly divided into normal group, model group, the PA group, TanReQing injection high-dose group and low-dose group. The EAE groups were induced by MOC₃₅₋₅₅ and PTX. Intraperitoneal injection of TanReQing were carried out on the day of immunization, PA group began to use gastric lavage when clinical symptoms appeared. The rest groups were injected normal saline instead. The behavioral changes of mice were recorded and HE and ELISA were observed on day 21 and 40. **Results** (1) The EAE groups began to appear clinical symptoms on day 8, the incidence was 100%. The neurological scores of EAE groups peaked on day 21 and the model group had the highest point of 2.35. The scores of TanReQing injection high-dose group and PA group were lower than the model group ($P < 0.01$). (2) HE stain showed EAE groups had inflammatory infiltration around the small blood vessels in the brain and nerve cells nucleus pycnosis, mainly around the third ventricle and the lateral ventricle. The inflammato-

基金项目:国家自然科学基金(81072765,81173237)

作者单位:100050 首都医科大学附属北京天坛医院中医科(樊永平、杨涛、袁春晓);首都医科大学中医药学院(郑琦、王蕾、房玲)

作者简介:樊永平(1965-),博士,教授。研究方向:中西医结合神经疾病的防治和研究。E-mail: yongpingf@hotmail.com

ry infiltration was remitted on day 40 compared with 21.3. TanReQing low-dose injection could inhibit the cytokines expression of IL-6, IL-10, IL-17a, IL-23 and TGF- β 1 with EAE mice ($P < 0.05$). **Conclusion** The TanReQing injection could effectively reduce EAE inflammatory reaction and the expression of inflammatory cytokines.

【Key words】 Multiple sclerosis; Experimental autoimmune encephalomyelitis; TanReQing injection; Inflammatory cytokines

多发性硬化 (multiple sclerosis, MS) 是一种免疫介导的中枢神经系统 (central nervous system, CNS) 的慢性炎症脱髓鞘性疾病^[1-3], 可导致神经系统的髓鞘脱失、轴突损伤^[4-6], 其发生具有明显的基因易感性。20 年来的实践证明, 中医药能有效改善神经症状, 调节免疫功能, 促进神经修复, 缓解复发病状, 减少发作次数, 弥补西医的不足, MS 是近年显现出来的中医优势病种之一^[7]。实验性变态反应性脑脊髓炎 (experimental allergic encephalomyelitis, EAE) 与人类 MS 病理变化相似, 其中用 MOG₃₅₋₅₅ 乳化液制作 C57BL/6 小鼠 EAE 模型为慢性进展型, 是 MS 理想模型^[8]。现代学者针对不同剂量 MOG₃₅₋₅₅ 乳化液制作 C57BL/6 小鼠 EAE 模型发病情况进行了比较, 发现 50 μ g 剂量免疫诱导的 C57BL/6 小鼠 EAE 模型稳定, 可在今后的研究中应用^[9-10]。本研究采用酶联免疫吸附法检测炎症因子在 EAE 小鼠大脑中的表达变化, 探讨痰热清对 EAE 小鼠炎症因子的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物

SPF 级 C57BL/6 小鼠 [SCXK (京) 2006-0009] 雌雄各 25 只, 7~8 周龄, 体重 16~22 g, 饲养于首都医科大学实验动物中心国家标准实验室 [SYXK (京) 2005-0022]。

1.2 药品及试剂

痰热清由上海凯宝药业有限公司提供, 醋酸泼尼松由天津太平洋制药有限公司提供。MOG₃₅₋₅₅ 多肽 (MEVGWYRSPFSRVVHLYRNGK) 由北京康为世纪生物科技有限公司合成。完全福氏佐剂 (Complete Freund's Adjuvant, CFA) 和结核分枝杆菌 (Tuberculosis, H37Ra, TB) 由美国 Difco 公司生产。酶联免疫吸附法 (ELISA) IL-17A 试剂盒购于 eBioScience 公司, IL-23 试剂盒购于北京四柏正生物有限公司。白介素 (interleukin, IL)-6、TGF- β 1、IL-10 试剂盒购于欣博盛生物科技有限公司。

1.3 EAE 模型制备

用 0.9% 生理盐水 20 ml 将抗原 10 mg MOG₃₅₋₅₅

及 120 mg TB 稀释并充分溶解, 用一只 50 ml 玻璃注射器抽取以上混合液, 用另一只 50 ml 玻璃注射器抽取 20 ml 的 CFA, 两只注射器排出空气后, 采取输液器管连接。反复抽打至油包水状制作而成抗原乳剂。模型组各组小鼠分别于背部中线两侧皮下 4 点注射抗原乳剂, 每只 0.2 ml, 免疫当天 (记为第 0 天) 及 48 小时 (第 2 天) 分别给模型各组小鼠腹腔注射 PTX 每只 500 ng (0.2 ml), 诱导小鼠产生 EAE。正常组均以生理盐水代替。

1.4 动物分组及给药方法

SPF 级 C57BL/6 雌性小鼠 100 只, 将小鼠随即分为正常组、模型组、激素组、痰热清大剂量组、痰热清小剂量组。模型及治疗组注射 MOG₃₅₋₅₅ 抗原乳剂及 PTX 诱导 EAE。免疫当天痰热清大小剂量组进行腹腔注射治疗, 激素组在发病后进行激素灌胃治疗。其余均以生理盐水代替。观察小鼠行为学的变化; 在早期、急性期及缓解期取小鼠大脑组织, HE 观察病理组织学改变, ELISA 检测 IL-6、IL-10、IL-17A、IL-23、TGF- β 1。

1.5 EAE 小鼠整体发病情况观察

免疫当天 (第 0 天) 开始, 每日观察动物体重变化、临床症状和体征、潜伏期、发病率和死亡率等, 并根据通用的 0~5 级标准对 EAE 小鼠的神经症状进行分级和评分: 0 级正常; 1 级鼠尾张力障碍; 2 级后肢部分瘫痪或步态不稳; 3 级后肢完全瘫痪; 4 级部分或完全前肢瘫痪; 5 级濒死状态或死亡。免疫后第 21 天、第 40 天取材。

1.6 病理学变化

选择 EAE 小鼠免疫诱导的第 21 天 (症状高峰期) 和第 40 天 (恢复期) 分别处死动物, 每个时点每组取 5 只小鼠, 腹腔注射 10% 的水合氯醛 (190 mg/kg) 麻醉, 麻醉后剪开胸腔, 充分暴露心脏, 快速心内插管, 经左心室灌注生理盐水至肝脏变白, 然后用 4% 多聚甲醛心内灌注固定, 待固定充分后, 取大脑 interaural 2.22 mm ~ interaural 1.74 mm 之间和脊髓颈膨大及腰骶膨大, 投入相同固定液于 4℃ 固定一周。置于真空组织脱水机中以梯度乙醇脱水及二甲苯透明, 石蜡包埋, 常规 HE 染色,

光镜观察其病理改变。

1.7 统计学处理

数据以均值 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。用 SPSS 16.0 统计软件进行分析,采用单因素方差分析,LSD 检验比较组间差异。

2 结果

2.1 各组小鼠发病率、死亡率及潜伏期的变化

EAE 模型组小鼠的发病率均为 100 %。模型组与痰热清大剂量组死亡率均为 7%。痰热清大剂量组可延长小鼠发病的潜伏期,与痰热清小剂量组相比有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 小鼠发病率、死亡率及潜伏期的变化 ($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数 (只)	发病率 (%)	死亡率 (%)	潜伏期 (天)
正常组	15	0	0	—
模型组	15	100	7	11.25 ± 1.94
激素组	15	100	0	10.93 ± 2.15
痰热清大剂量组	15	100	7	11.87 ± 1.92
痰热清小剂量组	15	100	0	11.17 ± 1.92 ^a

注:与痰热清大剂量组比较,^a $P < 0.05$

2.2 各组小鼠体重的变化

造模前(第 0 天)各组小鼠体重无统计学差异,造模后第 6 天各实验组小鼠体重较正常组均有所下降($P < 0.01, P < 0.05$);造模后第 15 天模型组体重仍有下降,达到最低值($P < 0.01$),造模后第 21,32 天模型组体重仍有下降($P < 0.01, P < 0.05$),但体重已经有所恢复,并呈增长趋势。第 40 天正常组与模型组之间无明显差异,痰热清大小剂量组有统计学差异($P < 0.05$)。见图 1。

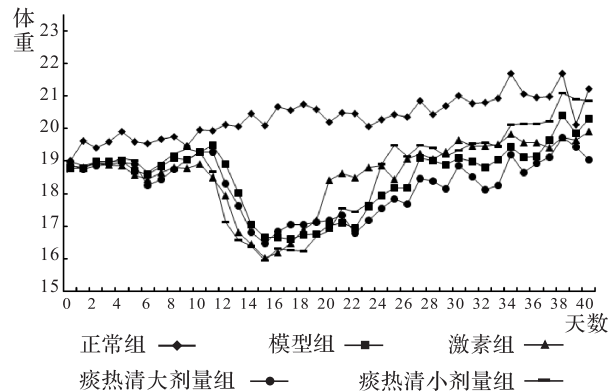


图 1 各组小鼠体重变化图

2.3 各组小鼠神经功能评分的变化

各实验组小鼠自免疫第 8 天陆续发病。发病后

模型组小鼠一般情况较正常组差,表现为精神萎靡,体重减轻或增长缓慢,皮毛不光滑,活动量减少。出现神经系统症状之后,表现为尾部无力拖垂,步履蹒跚,后肢瘫痪,行动困难,进而发展为四肢瘫痪,甚至死亡。各实验组第 15 天达到发病高峰期,第 21 天各治疗组神经功能评分均有所下降,激素组与痰热清大剂量组较模型组有统计学意义($P < 0.01$),发病高峰期过后,评分开始略有下降,第 32、40 天各治疗组较模型组均有统计学意义($P < 0.01$)。见图 2。

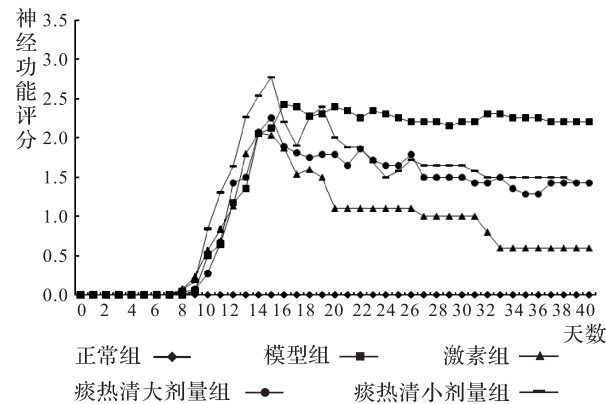


图 2 各组小鼠神经功能评分图

2.4 各组小鼠大脑的组织病理学变化

HE 染色光镜下显示,正常的小鼠脑,结构完整,神经细胞的胞质胞核分明,神经胶质细胞散在分布,小静脉血管周围可见极少量淋巴细胞。EAE 模型各组在急性期可见大脑内小血管周围炎性细胞浸润和神经细胞核固缩,灰白质均可受累,炎症以第三脑室及侧脑室周围为主,急性期有大量的淋巴细胞聚集在血管周围,并形成典型的袖套状改变。缓解期仍可见淋巴细胞浸润及血管袖套的形成。缓解期炎症浸润较急性期炎症浸润有所缓和,各治疗组均有好转。见图 3、4。

表 2 各组小鼠各时间点大脑内 TGF-β1 的变化 ($\bar{x} \pm s$)

组别	第 6 天	第 21 天	第 40 天
正常组	178.72 ± 26.09	232.31 ± 29.47	285.10 ± 140.77
模型组	276.63 ± 112.76	301.21 ± 102.72	240.28 ± 80.20
激素组	274.05 ± 115.61	148.82 ± 38.88 ^{ac}	334.80 ± 94.33
痰热清大剂量组	180.25 ± 32.46	224.81 ± 38.13	255.44 ± 129.83
痰热清小剂量组	125.34 ± 18.45 ^{bd}	151.25 ± 36.02 ^{ace}	163.70 ± 13.57 ^d

注:与正常组比较,^a $P < 0.05$;与模型组比较,^b $P < 0.05$,^c $P < 0.01$;与激素组比较,^d $P < 0.05$;与痰热清大剂量组比较,^e $P < 0.05$

2.5 ELISA 检测 TGF-β1 的变化

在早期(第 6 天)痰热清小剂量组小鼠大脑中

TGF- β 的表达较模型组和痰热清大剂量组低 ($P < 0.05$)。在小鼠发病急性期(第 21 天)激素组及痰热清小剂量组能够降低小鼠大脑中 TGF- β 的表达,且与正常组 ($P < 0.05$)和模型组 ($P < 0.01$)有统计学差异。痰热清小剂量组低于大剂量组且 ($P < 0.05$)。缓解期(第 40 天)痰热清小剂量组中 TGF- β 的表达仍低,较激素组有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

2.6 ELISA 检测的 IL-6 变化

在早期(第 6 天)痰热清小剂量组和痰热清大剂量组可下调 IL-6 的表达,与模型组及激素组比较有统计学差异 ($P < 0.01$)。在小鼠发病急性期(第 21 天)痰热清小剂量组 IL-6 的含量仍较低,与模型组比较有统计学差异 ($P < 0.01$),激素组与模型组比较亦有统计学差异 ($P < 0.01$)。缓解期(第 40 天)各组之间无统计学变化。见表 3。

表 3 各组小鼠各时间点大脑内 IL-6 的变化($\bar{x} \pm s$)

组别	第 6 天	第 21 天	第 40 天
正常组	55.23 \pm 12.77	59.50 \pm 4.99	55.80 \pm 0.47
模型组	78.32 \pm 4.24 ^b	78.06 \pm 28.62	73.06 \pm 27.01
激素组	79.60 \pm 3.62 ^b	38.81 \pm 8.41 ^c	79.93 \pm 5.58
痰热清大剂量组	52.77 \pm 11.19 ^{cd}	56.27 \pm 8.35	80.87 \pm 35.82
痰热清小剂量组	38.81 \pm 4.42 ^{acd}	43.13 \pm 13.74 ^c	48.70 \pm 5.61

注:与正常组比较,^a $P < 0.05$,^b $P < 0.01$;与模型组比较,^c $P < 0.01$;与激素组比较,^d $P < 0.01$

2.7 ELISA 检测的 IL-10 变化

在早期(第 6 天)痰热清小剂量组可降低 IL-10 的表达,与模型组及激素组比较有统计学差异 ($P < 0.01$)。在小鼠发病急性期(第 21 天)痰热清小剂量组 IL-6 的含量仍较低,与模型组,痰热清大剂量组比较有统计学差异 ($P < 0.01$, $P < 0.05$),激素组与模型组比较亦有统计学差异 ($P < 0.01$)。缓解期(第 40 天)激素组 IL-10 回升,与痰热清小剂量组比较有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 4。

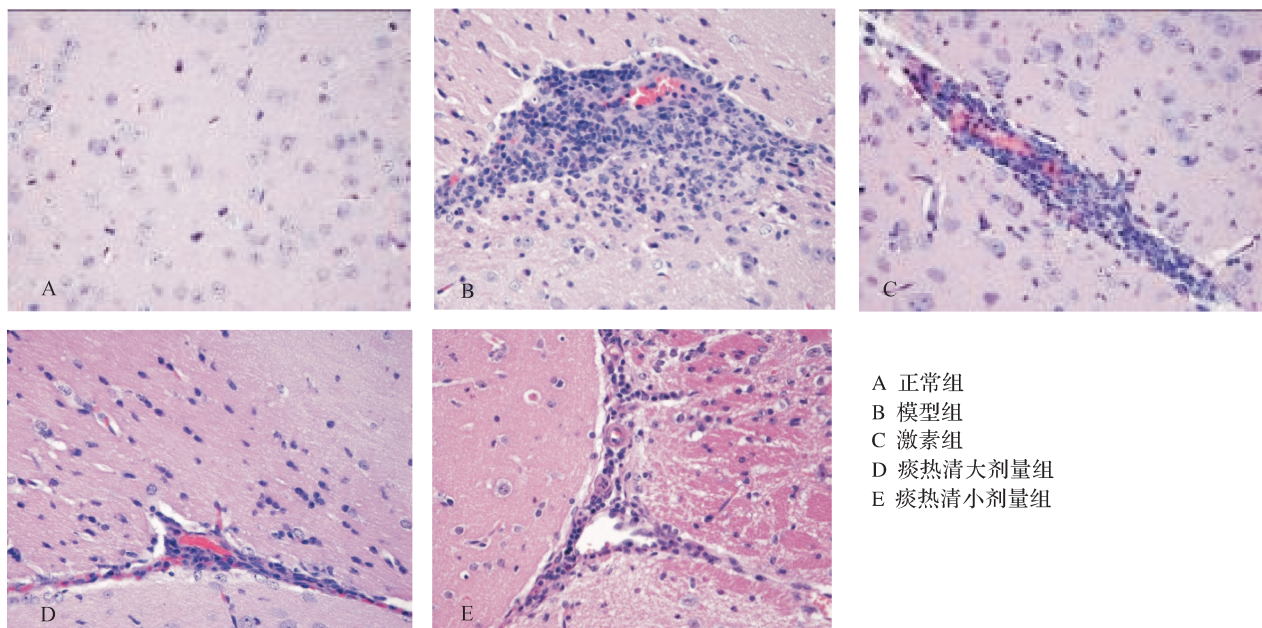
表 4 各组小鼠各时间点大脑内 IL-10 的变化($\bar{x} \pm s$)

组别	第 6 天	第 21 天	第 40 天
正常组	62.39 \pm 8.97	62.76 \pm 5.70	208.63 \pm 54.29
模型组	96.11 \pm 39.47	94.67 \pm 42.22	83.79 \pm 24.14
激素组	95.61 \pm 40.06	44.67 \pm 13.72 ^a	129.69 \pm 33.68
痰热清大剂量组	63.22 \pm 12.77	87.13 \pm 19.60 ^b	96.52 \pm 41.82
痰热清小剂量组	25.84 \pm 4.25 ^{ac}	45.87 \pm 15.81 ^{ad}	65.01 \pm 7.26 ^b

注:与模型组比较,^a $P < 0.01$;与激素组比较,^b $P < 0.05$,^c $P < 0.01$,与痰热清大剂量组比较,^d $P < 0.05$

2.8 ELISA 检测 IL-17A 的变化

在三期,痰热清小剂量组与模型组比较均较低 ($P < 0.01$, $P < 0.05$),在急性期与缓解期痰热清小剂量组较大剂量组低 ($P < 0.05$)。见表 5。



A 正常组
B 模型组
C 激素组
D 痰热清大剂量组
E 痰热清小剂量组

图 3 急性期(第 21 天)各组小鼠大脑组织中的病理学改变(HE \times 400)

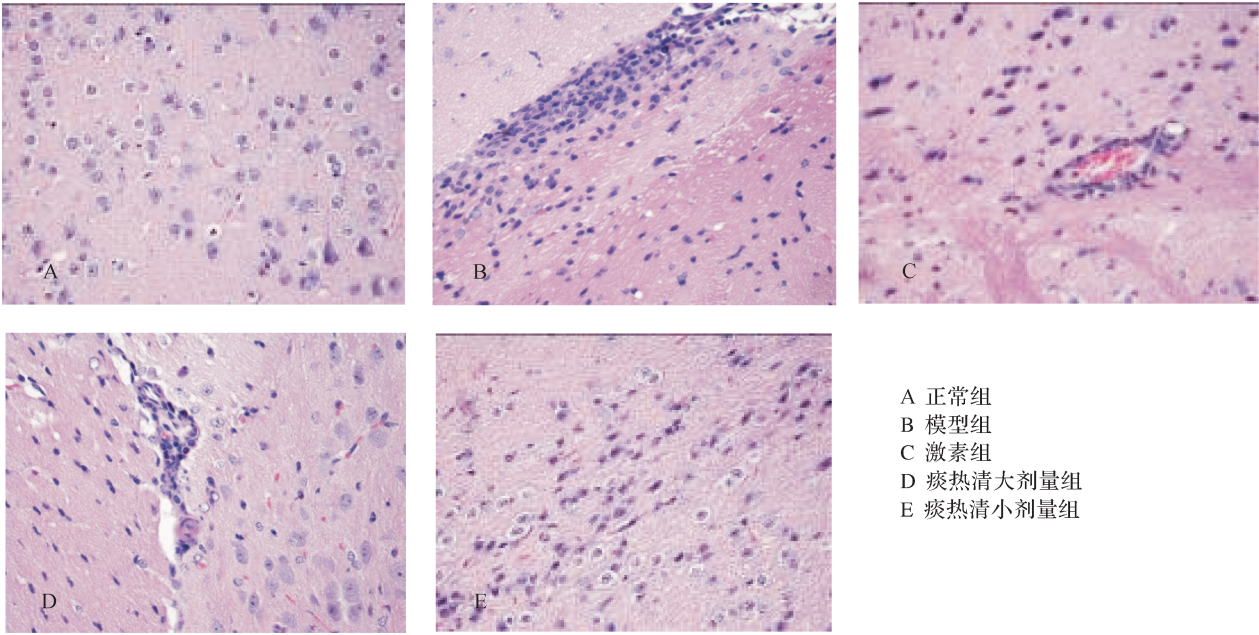


图 4 缓解期(第 40 天)各组小鼠大脑组织中的病理学改变(HE × 400)

表 5 各组小鼠各时间点大脑内 IL-17 的变化($\bar{x} \pm s$)

组别	第 6 天	第 21 天	第 40 天
正常组	99.49 ± 26.49	123.29 ± 19.80	120.50 ± 2.79
模型组	159.51 ± 61.56	170.79 ± 58.13 ^a	133.88 ± 22.24
激素组	165.08 ± 55.97 ^a	87.71 ± 25.83 ^c	107.12 ± 13.36
痰热清大剂量组	114.36 ± 36.95	143.52 ± 14.39 ^d	118.78 ± 30.50
痰热清小剂量组	83.40 ± 15.86 ^{bd}	88.30 ± 16.79 ^{ce}	65.01 ± 14.45 ^{ace}

注:与正常组比较,^a $P < 0.05$;与模型组比较,^b $P < 0.05$,^c $P < 0.01$;与激素组比较,^d $P < 0.05$;与痰热清大剂量组比较^e $P < 0.05$

2.9 ELISA 检测 IL-23 的变化

各组小鼠脑中 IL-23 的表达变化不大,在早期(第 6 天)痰热清小剂量组表达较低,与模型组及激素组比较有统计学差异($P < 0.05$)。缓解期(第 40 天)激素组较各组表达有所升高。见表 6。

表 6 各组小鼠各时间点大脑内 IL-23 的变化($\bar{x} \pm s$)

组别	第 6 天	第 21 天	第 40 天
正常组	8.99 ± 2.87	12.74 ± 0.72	10.50 ± 2.56
模型组	16.39 ± 8.78	17.36 ± 11.39	10.09 ± 4.06
激素组	16.01 ± 9.20	9.80 ± 5.19	30.15 ± 5.16
痰热清大剂量组	11.46 ± 3.91	14.80 ± 3.08	46.76 ± 65.71
痰热清小剂量组	3.46 ± 4.02 ^{ab}	16.90 ± 16.41	15.40 ± 1.94

注:与模型组比较,^a $P < 0.05$;与激素组比较,^b $P < 0.05$

3 讨论

EAE 与人类 MS 病理变化相似,是由 T 细胞介导的中枢神经系统脱髓鞘疾病。其中 Th17/Treg 的失衡是其发病的一个重要原因。近年来证实了转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β) 为分泌 IL-17 T 细胞亚群 (Th17 细胞) 分化关键因子,其拥有众多的功能作用^[11]。TGF- β 具有调控生物学进程的功能,包括了炎症、组织修复及肿瘤发生发展进程。一般认为,TGF- β 为抗炎因子。在敲除 TGF- β 基因小鼠中可见到严重免疫病理发生,表明了 TGF- β 抗炎的重要性。但是其高分泌亦可加重炎症反应。IL-6:作为一种促炎因子在 EAE 发病过程中的作用日益受到关注。Annunziato 等^[12]发现 IL-6 能诱导 Th17 细胞分泌 IL-17,与炎症发病密切相关。小鼠体外实验模型中,TGF- β 和 IL-6 联用可诱导 Th17 分化。IL-23:Th17 细胞分化过程中不需要 IL-23,但它又是 Th17 细胞的必须生存因子^[13],IL-23 缺陷小鼠中并没有 Th17 细胞^[14],其暗示在 IL-23 缺陷时,Th17 细胞可能不能扩增数量或生存。IL-10:在 EAE 模型中,其激活的髓磷脂反应致使炎症 CD4⁺ T 细胞在 CNS 内浸润、增殖,同时释放大促炎因子,启动炎症级联反应,导致脱髓鞘与轴突的损伤。调节 T 细胞(regulatory T cell, Treg)分泌的 IL-10 和 TGF- β 称为调节性细胞因子,具有抗炎作用,可限制 EAE 病情发展^[15]。IL-17:首先 IL-17 具有调节固有免疫的作用,IL-17 可以作用于

基因上的特定靶点来产生促炎症趋化因子、抗感染、急相反应物质等,其次 IL-17 具有信号转导的作用,再次 IL-17 具有促进自身免疫性疾病发生的作用^[1]。

本实验中,动物行为学观察发现,痰热清治疗组可以有效的缓解不同时期 EAE 小鼠神经功能的损伤,对 EAE 小鼠神经功能修复具有积极的治疗作用,其正常剂量组及倍剂量组神经功能评分基本一致。HE 染色观察发现,痰热清大小剂量治疗组炎性浸润程度在急性期及缓解期较模型组炎性细胞浸润明显减少,核固缩及核碎裂亦较模型组显著减少。ELISA 统计结果发现,痰热清注射液小剂量组可以不同程度的抑制早期、急性期及缓解期 TGF- β 1、IL-6、IL-23、IL-10 及 IL-17A 多种细胞因子的表达($P < 0.05$)。说明了痰热清注射液对 EAE 小鼠炎症的抑制并不是仅仅抑制一种或者两种的炎性因子的产生及释放,而是有效的抑制和延缓整个神经系统的炎性反应进程,尤其是抑制了 TGF- β 和 IL-6($P < 0.05$)的产生而使整个炎症反应进程得以缓解,进一步抑制了 Th17 细胞在早期 IL-17A($P < 0.05$)的分泌、急性期与缓解期 IL-17A($P < 0.01$)的产生,同时 IL-17A 作为重要的炎症损害因子,痰热清对其不同程度的降低减轻了中枢神经系统炎症损伤。本次实验通过多种炎性因子的检测,证实了痰热清治疗 MS/EAE 的机制是通过抑制整体炎症的发生与发展这个途径进行的。为痰热清治疗 EAE/MS 提供了科学依据。

在 EAE 发生中,痰热清注射液对小鼠炎症的抑制并不是促进抑炎因子的高表达,而是通过抑制 EAE 小鼠整体的炎性进程而实现的。

参 考 文 献

- [1] Bruna Teixeira, Vera Carolina Bittencourt, Ferreira TB, et al. Low sensitivity to glucocorticoid inhibition of in vitro Th17-related cytokines production in multiple sclerosis patients is related to elevated plasma lipopolysaccharide levels [J]. *Clinical Immunology*, 2013, 148(2):209-218.
- [2] Ying Li, Honghao Wang, Youming Long, et al. Increased memory Th17 cells in patients with neuromyelitis optica and multiple sclerosis [J]. *J Neuroimmunol*, 2011, 234(1-2):155-160.
- [3] Eixarch H, Mansilla MJ, Costa C, et al. Inhibition of delta-like ligand 4 decreases Th1/Th17 response in a mouse model of multiple sclerosis [J]. *Neurosci Lett*, 2013, 541:161-166.
- [4] 中华医学会神经病学分会神经免疫学组,中国免疫学会神经免疫分会. 中国多发性硬化诊断和治疗专家共识 [J]. *中华神经科杂志*, 2010, 43(7):516-521.
- [5] Arin Bhattacharya, Rahul Mishra, Prashant Tiwari. Multiple sclerosis: an overview [J]. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2012, 2(3):1954-1962.
- [6] Khalid A. Hanafy, Jacob A. Sloane. Regulation of remyelination in multiple sclerosis [J]. *FEBS Letters*, 2011, 585(23):3821-3828.
- [7] 樊永平. 中医药辨证治疗多发硬化优势与不足 [J]. *北京中医*, 2005, 24(4):209-211.
- [8] 陆正齐,朱灿胜,郑雪平,等. 不同抗原诱导不同动物多发性硬化模型的比较 [J]. *中山大学学报(医学科学版)*, 2008, 29(6):684-689.
- [9] 穆阳,赵晖,刘妍,等. 不同剂量 MOG 抗原免疫诱导小鼠自身免疫性脑脊髓炎模型的比较 [J]. *中国实验动物学报*, 2010, 18(1):1-5.
- [10] 李康宁,樊永平,王蕾. 不同剂量 MOG35-55 抗原诱导 EAE 小鼠模型的免疫组织化学比较 [J]. *中国实验动物学报*, 2010, 18(6):451-456.
- [11] Veldhoen M, Hocking R J, Atkins C J, et al. TGF- β in the context of an inflammatory cytokine milieu supports de novo differentiation of IL-17 producing T cells [J]. *Immunity*, 2006, 24:179-189.
- [12] Annunziato F, Cosmi L, Santarlasci V, et al. Phenotypic and functional features of human Th17 cells [J]. *Exp Med*, 2007, 204(8):1849-1861.
- [13] McKenzie BS, Kastele in RA, Cua D J, et al. Understanding the IL-23/IL-17 immune pathway [J]. *Trends Immunol*, 2006, 27:17-23.
- [14] Langrish CL, Chen Y, Blumenschein WM, et al. IL-23 drives a pathogenic T cell population that induces autoimmune inflammation [J]. *Exp Med*, 2005, 201:233-240.
- [15] LiMO, Flavell RA. Contextual regulation of inflammation: a duet by transforming growth factor-beta and interleukin-10 [J]. *Immunity*, 2008, 28(4):468-476.

(收稿日期:2014-01-24)

(本文编辑:秦楠)