

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2018.21.003

文章编号: 1005-8982 (2018) 21-0015-06

胎盘间充质干细胞移植对类风湿关节炎大鼠炎症因子及软骨破坏的影响

蒋文捷, 梁雪梅

(西南医科大学附属医院 老年科, 四川 泸州 646000)

摘要: 目的 分析胎盘间充质干细胞移植对类风湿关节炎大鼠炎症因子及软骨破坏的改善作用。**方法** 将 32 只 SD 大鼠随机分为 4 组, 实验组、对照组、模型组及对照组, 每组 8 只。实验组、对照组和模型组为复制类风湿关节炎动物模型, 正常组不做任何处理 ($n=8$)。造模后 12 h, 实验组尾静脉注射胎盘间充质干细胞, 对照组注射等量鼠成纤维细胞, 模型组不干预。干预 3 周后, 处死所有大鼠, 酶联免疫吸附实验与 qRT-PCR 检测。**结果** ①模型组、对照组与正常组比较, TNF- α 、IL-1 β 及 IL-6 水平均升高, 差异有统计学意义 ($P<0.05$); 实验组与模型组及对照组比较, TNF- α 、IL-1 β 及 IL-6 水平降低, 差异有统计学意义 ($P<0.05$); 实验组转化生长因子 β (TGF- β) 水平高于其余各组, 差异有统计学意义 ($P<0.05$); ②模型组、对照组与正常组比较, 滑膜组织基质金属蛋白酶 1 (MMP-1)、基质金属蛋白酶 3 (MMP-3) 及基质金属蛋白酶 13 (MMP-13) mRNA 升高, 差异有统计学意义 ($P<0.05$); 实验组与对照组及模型组比较, MMP-1、MMP-3 及 MMP-13 mRNA 水平降低, 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。实验组、对照组、模型组与正常组比较, 基质金属蛋白酶抑制物 3 mRNA 降低, 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。模型组、对照组与正常组比较, 钙黏素 11 mRNA 升高, 差异有统计学意义 ($P<0.05$); 实验组与模型组、对照组比较, 钙黏素 11 水平降低, 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。**结论** 胎盘间充质干细胞可能通过抑制 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平及 MMP 分泌与钙黏素 11 表达, 上调 TGF- β 水平, 来减轻类风湿关节炎大鼠的关节炎症与软骨破坏。

关键词: 胎盘间充质干细胞; 类风湿关节炎; 大鼠; 炎症因子; 基质金属蛋白酶

中图分类号: R593.22

文献标识码: A

Therapeutic effect of placenta mesenchymal stem cell transplantation on inflammatory factors and cartilage destruction in rheumatoid arthritis rats

Wen-jie Jiang, Xue-mei Liang

(Department of Gerontology, the Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Luzhou, Sichuan 646000, China)

Abstract: Objective To investigate the therapeutic effect of placenta mesenchymal stem cells (PMSC) transplantation on inflammatory factors and cartilage destruction in rheumatoid arthritis rats. **Methods** Totally 32 SD rats were randomly divided into experimental group (RA rats receiving PMSC) ($n=8$), control group (RA rats receiving fibroblast cells) ($n=8$), model group (RA rats without any treatments) ($n=8$), and normal group (normal rats without any treatments) ($n=8$). Rats received intravenous injection of cells 12 h after modeling. All rats were sacrificed 3 weeks after intervention. ELISA and PT-PCR were performed for further analysis. **Results** Levels of TNF- α , IL-1 β and IL-6 were elevated in model group and control group when compared with normal control group

收稿日期: 2017-10-27

[通信作者] 梁雪梅, E-mail: 276974602@qq.com

($P < 0.05$) while rats in experimental group experienced significantly lower levels of TNF- α , IL-1 β and IL-6 when compared with model group. Expression of TGF- β was dramatically increased in experimental group when compared with remaining groups ($P < 0.05$). Levels of MMP-1, MMP-3 and MMP-13 were upregulated in model group and control group when compared with normal control group ($P < 0.05$) while rats in experimental group experienced significantly lower levels of MMP-1, MMP-3 and MMP-13 when compared with model group ($P < 0.05$). Levels of synovial cadherin-11 were upregulated in model group and control group when compared with normal control group ($P < 0.05$), while rats in experimental group experienced significantly lower levels of synovial cadherin-11 when compared with model group ($P < 0.05$). **Conclusions** Placenta derived mesenchymal stem cells reduce joint inflammation and cartilage destruction through reduction of TNF- α , interleukin 1, interleukin 6, MMPs, and cadherin-11 as well as upregulation of TGF- β in rats with rheumatoid arthritis.

Keywords: placenta mesenchymal stem cells; rheumatoid arthritis; rat; inflammatory mediator; matrix metalloproteinases

类风湿关节炎是一种可由多因素引发的自身免疫性疾病, 病变主要累积关节, 病理表现为成纤维样滑膜细胞增生、大量炎症细胞浸润、微血管新生、血管翳形成及软骨和骨组织的破坏等, 好发于 40 ~ 60 岁年龄段, 且以女性居多, 其发病持续时间与关节炎程度呈正相关, 应给予及早发现治疗, 避免发生关节畸形及功能丧失。目前, 对类风湿关节炎的治疗, 主要是减轻关节炎症反应, 抑制病变发展及不可逆骨质破坏, 尽可能保护关节和肌肉功能, 最终达到病情完全缓解或低疾病活动度的目的^[1-3]。治疗药物主要有非类固醇类消炎止痛药, 如芬必得、扶他林等, 可减轻症状, 但不能治根; 缓解病情药, 如按捺剂等, 能缓解病情; 激素, 可快速消除症状, 但不良反应严重。也陆续有一些新的药物被用于治疗类风湿关节炎, 但还是有很大一部分患者病情得不到控制, 因此迫切需要一种更好的治疗方法。

间充质干细胞来源于中胚层, 具有高度自我更新能力和多向分化潜能, 来源广泛, 体外容易扩增, 安全性较好, 免疫原性低, 并且具有强大的免疫抑制功能。间充质干细胞来源广泛, 可来源于骨髓、脂肪、脐带、脐血或胎盘等多种组织, 并且有研究证实间充质干细胞可抑制成纤维样滑膜细胞的增殖^[4-5]。实验选择人胎盘间充质干细胞 (placenta mesenchymal stem cells, PMSCs) 作为移植治疗细胞, 观察其对类风湿关节炎大鼠炎症因子及软骨破坏的改善作用。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

人胎盘组织来自本院实施剖宫产产妇, 产妇健康, 产妇自愿捐献胎盘组织, 对实验知情同意并签署知情同意书。鼠成纤维细胞购自上海富衡生物科技有

限公司。

6 ~ 8 周龄清洁级 SD 大鼠 32 只, 雌雄不拘, 体重 (200 ± 16) g, 将 35 只大鼠随机分为正常组 ($n=8$)、模型组 ($n=8$)、对照组 ($n=8$) 及实验组 ($n=8$)。

I 型胶原酶、牛 II 型胶原、弗氏完全佐剂 (美国 Sigma Aloffich 公司), 逆转录酶试剂盒 (大连 TaKaRa 公司), DMEM 培养基、成脂诱导培养基及成骨诱导培养基 (Gibco 公司), 抗 CD90、CD44、CD34、CD45 抗体 (美国 BD 公司), 茜素红 S 试剂、油红 O 试剂 (上海生工生物工程有限公司)。

1.2 仪器与设备

流式细胞仪 (美国 BD 公司), 倒置相差显微镜 (日本 Olympus 公司), 酶标仪 (美国 Molecular Devices 公司), 二氧化碳 CO₂ 培养箱 (美国 Forma 公司), PCR 仪 (美国 Bio-Rad 公司)。

1.3 方 法

1.3.1 PMSCs 的分离培养^[6-7] 取新鲜剥离胎盘羊膜下组织, PBS 反复清洗后, 剪成 1 mm × 1 mm × 1 mm 的小块, I 型胶原酶水浴震荡消化 1 h, 细胞筛过滤收集, 离心弃上清, PBS 清洗 2 遍后, 以含胎牛血清、双抗的 DMEM 培养基培养, 置于 37℃、体积分数 5% CO₂ 培养箱中, 72 h 后全量换液, 每 3 天换液 1 次, 第 4、5 天细胞生长可达 80% 融合, 胰酶消化细胞, 以 1 : 3 的比例进行细胞传代, 传代培养第 3 代细胞用于以下实验。

1.3.2 PMSCs 的鉴定 取第 3 代 PMSCs, 流式细胞仪检测细胞表面 CD90、CD44、CD34、CD45 抗体表达; 取生长良好的第 3 代 PMSCs, 细胞生长至 80% 融合时接种至 6 孔板, 加入成脂细胞诱导培养液培养 10 d, 进行油红 O 染色, 观察脂滴形成情况^[8]; 取生长良好的第 3 代 PMSCs, 细胞生长至 80% 融合时接种至 6 孔

板, 加入成骨细胞诱导培养液培养 21 d, 进行茜素红染色, 观察钙结节形成情况^[8]。

1.3.3 复制类风湿性关节炎动物模型 首先将纯化的牛 II 型胶原溶于 0.1 mol/L 醋酸中, 制成质量浓度为 1 g/L 的溶液, 与等量弗氏完全佐剂混合成稳定乳剂。取模型组、对照组及实验组大鼠, 在各大鼠背部皮内分 4 点共注射 1 ml 乳剂; 21 d 后, 将 0.5 mg 胶原溶于 0.5 ml 1 mol/L 醋酸中, 注入大鼠腹腔再次加强注射。第 1 次注射后 2 周, 随机取模型组大鼠 3 只, 处死, 取后肢关节进行苏木精-伊红染色, 发现关节腔均存在不同程度狭窄, 关节软骨增生严重, 部分个体标本可见软骨坏死现象, 滑膜组织增生较多, 可见 10 层以上的细胞层, 关节周边可见增生较多的血管丛或血管翳, 证实实验造模成功^[9]。

1.3.4 实验分组干预 第 2 次注射后 12 h, 实验组大鼠尾静脉注射 1×10^7 个/kg PMSCs (细胞浓度为 1×10^7 个/ml), 对照组注射等量成纤维细胞, 模型组不进行任何治疗。干预 3 周后, 处死所有大鼠, 进行以下检测。

1.3.5 酶联免疫吸附实验检测细胞因子水平 处死前内眦静脉取外周血 2 ml, 1 000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 严格参照酶联免疫吸附试剂盒说明书操作, 检测肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β)、白细胞介素 1 β (interleukin-1 β , IL-1 β) 及白细胞介素 6 (interleukin-6, IL-6) 水平。

1.3.6 检测基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinases, MMPs)、基质金属蛋白酶抑制物 (tissue inhibitor of metallo-proteinases, TIMPs) 及钙黏素 11 mRNA 表达 处死大鼠, 获取关节滑膜组织, 提取各组 RNA, 按逆转录试剂盒说明书操作获得 cDNA, 设计引物序列。MMP-1: 正向 5'-CTGGCCAAATCTGCCAGGTAA-3', 反向 5'-TCACAAACGGCAGCGTCAA-3'; MMP-3: 正向 5'-TGATGGGCTGGAATGGTC-3', 反向 5'-TTCATGAGCAGCAACCAGGAATAG-3'; MMP-13: 正向 5'-CC CAGATGATGACGTTCAAGGA-3', 反向 5'-CTCGGAGA CTAGTAATGGCATCAAG-3'; TIMP-1: 正向 5'-CATCTCTGGCCTCTGGCATC-3', 反向 5'-CATAACGCTGGTAT AAGGTGGTCTC-3'; TIMP-3: 正向 5'-AGGGCTGTGCAACTTTGTGG-3', 反向 5'-TCTTGGAGTCCACAAAGC AAGG-3'; 钙黏素 11: 正向 5'-TGCTGCCAACAGCCCA ATAA-3', 反向 5'-GAGATGTTGAGCCAGGCAGTTTC-

3'; GADPH: 正向 5'-GCACCGTCAAGGCTGAGAAC-3', 反向 5'-TGGTGAAGACGCCAGTGGA-3'。PCR 反应总体积 20 μ l, 在 ABI Prism 7500 型高通量荧光定量 PCR 仪进行实时荧光定量聚合酶链反应 (quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR), 各基因每个标本做 3 个复孔, qRT-PCR 反应条件: 95 $^{\circ}$ C 预变性 10 s; 95 $^{\circ}$ C 变性 5 s, 60 $^{\circ}$ C 退火 34 s, 循环 45 次; 在 60 $^{\circ}$ C 退火 34 s 阶段检测荧光值, 并在上述扩增条件后增加 60~95 $^{\circ}$ C 的熔解曲线分析步骤, 计算各标本平均 Ct 值, 以 GAPDH Ct 值作为内参, 将目的基因 Ct 值减去 GAPDH Ct 值作为 Δ Ct 值。正常组大鼠的 Δ Ct 值平均值作为 $\Delta\Delta$ Ct 值, 计算标准化后的 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 值为 mRNA 的相对表达含量^[10]。

1.4 统计学方法

数据分析采用 SPSS 18.0 统计软件, 计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 符合正态分布和方差齐性的情况下, 多组间数据比较可采用多个样本均数比较的方差分析, 差异有统计学意义, 再进一步应用 LSD-*t* 检验进行组间两两比较, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

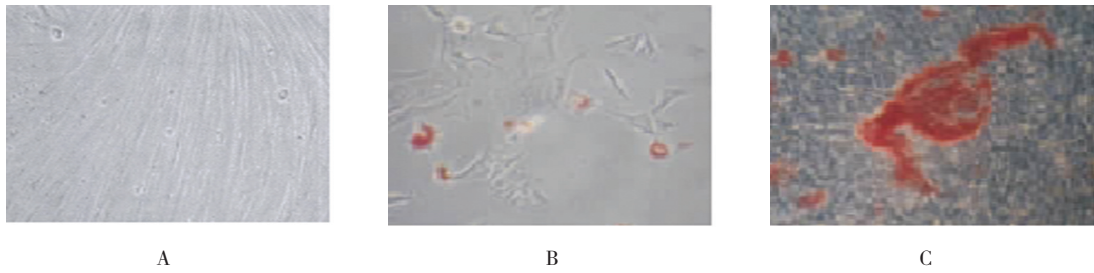
2 结果

2.1 PMSCs 的分离培养与鉴定结果

原代培养约 3 d, 可见少量贴壁细胞, 细胞呈圆形或梭形; 培养 10 d 左右, 贴壁细胞逐渐增多并伸展; 培养的第 3 代 PMSCs 呈长梭形, 类似成纤维细胞, 呈漩涡状聚集 (见图 1A)。第 3 代 PMSCs 成脂诱导培养 10 d 后, 油红 O 染色可见红色的脂滴颗粒, 呈阳性 (见图 1B); 成骨诱导培养 21 d 后, 茜素红染色可见钙结节, 呈阳性 (见图 1C)。流式细胞仪检测显示, 第 3 代 PMSCs 高表达 CD44、CD90, 而 CD34、CD45 呈阴性表达 (见图 2)。

2.2 4 组细胞因子水平比较

方差分析结果表明, 4 组间 TNF- α 、TGF- β 、IL-1 β 及 IL-6 水平比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。进一步进行 LSD-*t* 检验结果表明, 模型组、对照组与正常组比较, TNF- α 、IL-1 β 及 IL-6 水平均升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 实验组与模型组、对照组比较, TNF- α 、IL-1 β 及 IL-6 水平降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 实验组 TGF- β 水平高于其余 3 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。



A: 第 3 代 PMSCs; B: 第 3 代 PMSCs 成脂诱导培养 10 d 后, 油红 O 染色可见红色的脂滴颗粒; C: 第 3 代 PMSCs 成骨诱导培养 21 d 后, 茜素红染色可见钙结节

图 1 PMSCs 的培养与成脂成骨分化能力 (× 100)

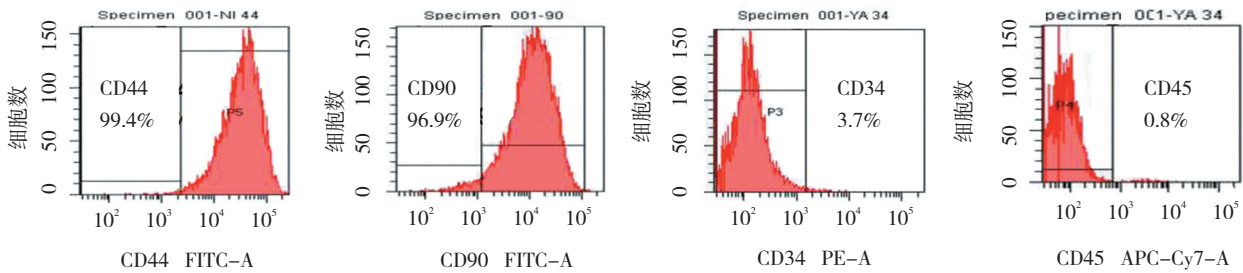


图 2 PMSCs 表面分子表达分析

表 1 各组大鼠血清细胞因子水平的比较 (n=8, ng/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	TNF- α	TGF- β	IL-1 β	IL-6
正常组	57.65 \pm 11.23	309.79 \pm 96.45	25.67 \pm 8.96	25.68 \pm 8.96
模型组	80.12 \pm 9.68 ¹⁾	310.57 \pm 198.60	99.36 \pm 89.78 ¹⁾	89.85 \pm 24.38 ¹⁾
对照组	70.69 \pm 6.39 ¹⁾	246.27 \pm 80.96 ¹⁾	66.38 \pm 28.54 ¹⁾	88.64 \pm 25.64 ¹⁾
实验组	58.62 \pm 10.78 ²⁾³⁾	512.63 \pm 230.19 ²⁾³⁾	59.35 \pm 26.78 ²⁾³⁾	70.69 \pm 11.85 ²⁾³⁾
F 值	32.092	43.465	59.474	48.954
P 值	0.000	0.000	0.000	0.000

注: 1) 与正常组比较, P<0.05; 2) 与模型组比较, P<0.05; 3) 与对照组比较, P<0.05

2.3 4 组 MMPs mRNA 表达比较

方差分析结果表明, 4 组间 MMP-1、MMP-3 及 MMP-13 mRNA 表达比较, 差异有统计学意义 (P<0.05)。进一步进行 LSD-t 检验结果表明, 模型组、对照组与正常组比较, 滑膜组织 MMP-1、MMP-3 及 MMP-13 mRNA 表达升高, 差异有统计学意义 (P<0.05); 实验组与对照组、模型组比较, MMP-1、MMP-3 及 MMP-13 mRNA 表达降低, 差异有统计学意义 (P<0.05)。见表 2。

2.4 4 组 TIMP-1 mRNA 表达比较

正常组、模型组、对照组、实验组 TIMP-1 mRNA 表达分别为 (4.90 \pm 0.45)、(1.39 \pm 0.21)、(8.09 \pm 0.78) 及 (10.26 \pm 0.90)。正常组、模型组、对照组、实验组 TIMP-3 mRNA 表达分别为 (1.29 \pm 0.15)、(0.49 \pm

0.08)、(0.36 \pm 0.06) 及 (0.52 \pm 0.09)。方差分析结果表明, 4 组间 TIMP-1、TIMP-3 mRNA 表达比较, 差异有统计学意义 (F=25.145 和 22.466, 均 P=0.000)。进一步进行 LSD-t 检验结果表明, 模型组与正常组比较, TIMP-1、TIMP-3 mRNA 表达降低, 差异有统计学意义 (P<0.05); 对照组、实验组与模型组比较, TIMP-1 mRNA 表达增高, 差异有统计学意义 (P<0.05), 而模型组、对照组、实验组间 TIMP-3 mRNA 表达比较差异无统计学意义 (P>0.05)。

2.5 4 组钙黏素 11 mRNA 表达比较

正常组、模型组、对照组、实验组钙黏素 11 mRNA 表达分别为 (0.94 \pm 0.08)、(5.92 \pm 0.64)、(6.15 \pm 0.59) 及 (0.82 \pm 0.05)。方差分析结果表明, 4 组间钙黏素 11 mRNA 表达比较, 差异有统计学意义

表 2 各组大鼠滑膜组织 MMPs mRNA 表达的比较

 $(n=8, \bar{x} \pm s)$

组别	MMP-1 mRNA	MMP-3 mRNA	MMP-13 mRNA
正常组	1.23 ± 1.12	1.35 ± 1.24	1.49 ± 1.89
模型组	6.80 ± 5.69 ¹⁾	5.89 ± 6.97 ¹⁾	22.58 ± 19.49 ¹⁾
对照组	8.54 ± 5.98 ¹⁾	6.01 ± 4.21 ¹⁾	23.19 ± 23.25 ¹⁾
实验组	1.19 ± 1.25 ^{2) 3)}	1.33 ± 1.26 ^{2) 3)}	3.01 ± 2.15 ^{2) 3)}
F 值	21.628	23.440	29.151
P 值	0.000	0.000	0.000

注: 1) 与正常组比较, $P < 0.05$; 2) 与模型组比较, $P < 0.05$; 3) 与对照组比较, $P < 0.05$

($F = 20.893$, $P = 0.000$)。进一步进行 LSD- t 检验结果表明, 模型组、对照组与正常组比较, 钙黏素 11 mRNA 表达升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 实验组与模型组、对照组比较, 钙黏素 11 mRNA 表达降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

3 讨论

体内外研究表明, 间充质干细胞具有免疫抑制能力, 可通过调节淋巴细胞亚群而改善系统性红斑狼疮与克罗恩病^[11-12]。因此推测 PMSCs 也同样有免疫抑制能力, 并且前期实验通过病理组织学也证实, PMSCs 确实可改善类风湿关节炎模型大鼠的关节炎症及关节破坏的程度。因此本实验做了进一步研究, 观察 PMSCs 移植治疗后, 大鼠血清炎症因子及滑膜组织 MMPs、TIMPs 及钙黏素 11 的表达水平。

IL-1 β 、IL-6 与 TNF- α 均是类风湿关节炎发病的重要促炎症因子, 参与疾病的发生与发展^[13-16]。解海霞等^[17]、肖金鱼等^[18]研究表明, 白细胞介素 1 可促进滑膜细胞和淋巴细胞的增殖和分化, 促进滑膜细胞和软骨细胞合成并释放前列腺素 E2 和 D 胶原酶, 引发滑膜炎症反应、软骨基质的崩解。另外, IL-1 β 能刺激滑膜细胞和软骨细胞合成过量的 MMPs, 包括胶原酶和基质溶素, 后者能溶解破坏软骨基质。在体外, TNF- α 可刺激滑膜纤维母细胞和软骨细胞产生前列腺素 E2 和胶原酶, 促进骨质破坏和骨的吸收及纤维母细胞增生, 抑制骨胶原的合成; 也能促进软骨细胞分泌纤维蛋白溶酶激活剂, 使纤维蛋白溶酶原变成纤维蛋白溶酶, 加快关节炎损伤过程。IL-6 可由 IL-1 β 、TNF- α 诱导与分泌, 其与 IL-1 β 与 TNF- α 具有协同效应。通过检测 3 种细胞因子水平, 可判断

PMSCs 对类风湿关节炎的炎症抑制作用。研究结果显示, 模型组、对照组 TNF- α 、IL-1 β 及 IL-6 水平均高于正常组, 说明实验造模成功, 有关节炎症表现; 实验组 TNF- α 、IL-1 β 及 IL-6 水平低于模型组及对照组, 说明 PMSCs 移植治疗降低类风湿性关节炎的炎症反应, 具有治疗作用。此外, 实验结果还显示实验组 TGF- β 水平高于其余各组, 而 TGF- β 为抑炎症因子, 同样也证实了 PMSCs 的治疗作用。

类风湿关节炎最重要的病理表现之一就是软骨的破坏, 而软骨破坏主要与 MMPs 及 TIMPs 比例失衡及钙黏素的表达有关^[19-22]。实验结果显示, 类风湿关节炎模型大鼠滑膜组织内高表达破坏软骨结构的 MMP-1、MMP-3 及 MMP-13, 低表达 TIMP-1、TIMP-3 经过 PMSCs 移植治疗后, 滑膜组织内 MMP-1、MMP-3 及 MMP-13 降低, 说明其可通过抑制 MMPs 的表达减轻关节软骨的破坏。钙黏素 11 为关节滑膜细胞特异性表达黏附分子, 可促进类风湿关节炎滑膜成纤维细胞的迁移, 增强其侵袭能力, 参与类风湿关节炎的发生、发展。本研究结果显示, 模型组、对照组钙黏素 11 水平高于正常组, 差异有统计学意义, 证实类风湿关节炎发病中滑膜组织钙黏素 11 水平增高; 经过 PMSCs 移植治疗后, 类风湿关节炎模型大鼠滑膜组织钙黏素水平降低, 说明 PMSCs 移植可通过下调类风湿关节炎滑膜组织钙黏素 11 水平来抑制滑膜成纤维细胞的迁移, 抑制其侵袭能力, 阻止病情的进一步发展。

综上所述, PMSCs 可能通过抑制 TNF- α 、IL-1 β 及 IL-6 水平及 MMPs 分泌与钙黏素 11 表达, 上调 TGF- β 水平, 来减轻类风湿关节炎大鼠的关节炎症与软骨破坏, 但具体的机制还有待进一步研究。

参 考 文 献:

- [1] 陈莉. 沙利度胺联合来氟米特与甲氨蝶呤治疗类风湿关节炎的疗效观察[J]. 临床医药文献电子杂志, 2017, 4(5): 932.
- [2] LUUKKONEN J, PASCUAL L M, PATLAKA C, et al. Increased amount of phosphorylated proinflammatory osteopontin in rheumatoid arthritis synovia is associated to decreased tartrate-resistant acid phosphatase 5B/5A ratio[J]. PLoS One, 2017, 12(8): e0182904.
- [3] 刘欢, 杨晓凌. 老年类风湿性关节炎的临床特征及血清炎症因子的改变[J]. 实用临床医药杂志, 2017, 21(3): 188-190.
- [4] ZHANG L, WANG X Y, ZHOU P J, et al. Use of immune modulation by human adipose-derived mesenchymal stem cells to treat experimental arthritis in mice[J]. Am J Transl Res, 2017, 9(5): 2595-2607.

- [5] HOU J, OUYANG Y, DENG H, et al. Whole-genome expression analysis and signal pathway screening of synovium-derived mesenchymal stromal cells in rheumatoid arthritis[J]. *Stem Cells Int*, 2016(2016): 1375031.
- [6] 李昆, 于艳秋, 李世正. 两种分离人胎盘间充质干细胞方法的比较[J]. *中国医科大学学报*, 2010, 39(8): 675-676.
- [7] 赖平, 陈懿建, 罗耀玲, 等. 人胎盘源间充质干细胞的分离、培养及生物学鉴定[J]. *赣南医学院学报*, 2016, 36(2): 183-186.
- [8] 韩之波, 王有为, 王涛, 等. 人胎盘底蜕膜间充质干细胞的分离及其生物学特性研究[J]. *中国实验血液学杂志*, 2013, 21(3): 754-759.
- [9] 宋珊珊, 张玲玲, 魏伟. 实验性关节炎动物模型建立及病理机制研究进展[J]. *中国药理学通报*, 2011, 27(12): 1648-1653.
- [10] 姚瑶, 丁从珠, 葛卫红. 来氟米特代谢物 teriflunomide 调节 NFATc1 基因抑制破骨细胞分化作用研究药学与临床研究, 2012, 20(4): 285-288.
- [11] 魏姗姗, 赖宽, 曾抗. 间充质干细胞移植治疗系统性红斑狼疮的研究进展[J]. *皮肤性病诊疗学杂志*, 2017, 24(1): 57-60.
- [12] 唐帮丽, 邓丹琪. 间充质干细胞移植治疗自身免疫性疾病的进展[J]. *临床皮肤科杂志*, 2013, 42(1): 62-66.
- [13] OH B R, SUH D H, BAE D, et al. Therapeutic effect of a novel histone deacetylase 6 inhibitor, CKD-L, on collagen-induced arthritis in vivo and regulatory T cells in rheumatoid arthritis in vitro[J]. *Arthritis Res Ther*, 2017, 19(1): 154.
- [14] HANNAWI S, ALSALMI I, MOLLER I, et al. Uric acid is independent cardiovascular risk factor, as manifested by increased carotid intima-media thickness in rheumatoid arthritis patients[J]. *Clin Rheumatol*, 2017, 36(8): 1897-1902.
- [15] 龙朝阳, 李凤珍, 梁江洪, 等. 清毒伸筋汤对胶原诱导性关节炎大鼠血清 TNF- α 、IL-1 β 水平的影响[J]. *中医学报*, 2017, 32(1): 93-95.
- [16] 何伟, 苏林冲, 冯佳, 等. 肿瘤坏死因子- α 抑制剂在类风湿关节炎中的应用[J]. *湖北民族学院学报(医学版)*, 2016, 33(1): 72-75.
- [17] 解海霞, 陈学旻, 张青. 疏血通注射液对大鼠佐剂性关节炎的治疗作用研究[J]. *牡丹江医学院学报*, 2010, 31(6): 16-18.
- [18] 肖金鱼, 王炳胜, 王书杰. IL-1 及 TNF- α 在关节炎大鼠模型血清中表达的实验研究[J]. *中国中医急症*, 2011, 20(4): 607-608.
- [19] TATEMATSU N, WAGURI-NAGAYA Y, KAWAGUCHI Y, et al. Mithramycin has inhibitory effects on gliostatin and matrix metalloproteinase expression induced by gliostatin in rheumatoid fibroblast-like synoviocytes[J]. *Mod Rheumatol*, 2017, 28(3): 495-505.
- [20] STOJANOVIC S, BOJANA STAMENKOVIC, STOIMENOV TJ, et al. Association of tumor necrosis factor- α (G-308A) genetic variant with matrix metalloproteinase-9 activity and joint destruction in early rheumatoid arthritis[J]. *Clin Rheumatol*, 2017, 36(7): 1479-1485.
- [21] NAM E J, KANG J H, SA K H, et al. Robust therapeutic efficacy of matrix metalloproteinase-2-cleavable Fas-1-RGD peptide complex in chronic inflammatory arthritis[J]. *PLoS One*, 2016, 11(10): e0164102.
- [22] ROBINSON C, TSANG L, SOLOMON A, et al. Omentin concentrations are independently associated with those of matrix metalloproteinase-3 in patients with mild but not severe rheumatoid arthritis[J]. *Rheumatol Int*, 2017, 37(1): 3-11.

(王荣兵 编辑)