

不同齿科合金对成纤维细胞增殖凋亡的影响及机制研究

陈书宝 张 睿 李 锐

摘 要 **目的** 探讨不同齿科合金对成纤维细胞增殖凋亡的影响及机制。**方法** 小鼠成纤维 L929 细胞分为阴性对照组、金合金组、镍铬合金组和铜合金组,各组细胞培养 48h 后,MTT 实验检测细胞增殖;流式细胞术检测细胞周期和细胞凋亡率;Western blot 法检测 Bcl-2、Bax、cleaved caspase-3 蛋白表达。**结果** 金合金组和镍铬合金组细胞增殖率与阴性对照组比较,差异无统计学意义($P>0.05$),铜合金组细胞增殖率显著低于阴性对照组($P<0.01$);金合金组 G₁ 期、S 期和 G₂ 期细胞与阴性对照组差异无统计学意义($P>0.05$),镍铬合金组和铜合金组 G₁ 期细胞显著低于阴性对照组,S 期和 G₂ 期细胞显著高于阴性对照组($P<0.05$);金合金组细胞凋亡率及 Bcl-2、Bax、cleaved caspase-3 蛋白表达与阴性对照组差异无统计学意义($P>0.05$),镍铬合金组和铜合金组细胞凋亡率及 Bax、cleaved caspase-3 蛋白表达均显著高于阴性对照组,Bcl-2 蛋白表达显著低于阴性对照组($P<0.01$)。**结论** 金合金组、镍铬合金组和铜合金组对成纤维细胞增殖凋亡均有一定的影响,金合金组的影响最小,不同齿科合金引起成纤维细胞凋亡的机制可能与调控 Bcl-2、Bax、cleaved caspase-3 蛋白表达有关。

关键词 齿科合金 成纤维细胞 增殖 凋亡

中图分类号 R783.3

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2018.01.025

Effects and Its Mechanism of Different Dental Alloys on Proliferation and Apoptosis of Fibroblast. Chen Shubao, Zhang Rui, Li Rui. Department of Stomatology, Second Affiliated Hospital of Nanyang Medical College, Henan 473000, China

Abstract **Objective** To investigate the effects and its mechanism of different dental alloys on proliferation and apoptosis of fibroblast. **Methods** Mouse fibroblast L929 cells were divided into negative control group, gold alloy group, Ni Cr alloy group and copper alloy group. Cell proliferation was detected by MTT assay. Cells were cultured for 48h. Cell cycle and apoptosis rate were detected by flow cytometry. The expression of Bcl-2, Bax, cleaved caspase-3 protein were detected by Western blot. **Results** Cell proliferation rate had no significant difference in gold alloy group and Ni Cr alloy group and negative control group ($P>0.05$), while was significantly lower in copper alloy group than the negative control group ($P<0.01$). G₁ phase, S phase and G₂ phase cells between gold alloy group and the negative control group had no significant difference ($P>0.05$), while G₁ phase cells in Ni Cr alloy and copper alloy group was significantly lower than negative control group. S phase and G₂ phase cells were significantly higher than the negative control group ($P<0.05$ or $P<0.01$). Cell apoptosis rate and the expression of Bcl-2, Bax, cleaved caspase-3 protein between gold alloy group and negative control group had no significant difference ($P>0.05$). Cell apoptosis rate and the expression of Bax,cleaved caspase-3 protein between Ni Cr alloy and copper alloy group were significantly higher than the negative control group. Bcl-2 protein expression was significantly lower than the negative control group ($P<0.01$). **Conclusion** The gold alloy, Ni Cr alloy and copper alloy can influence proliferation and apoptosis of fibroblast. The gold alloy group is minimum. Different dental alloys leads to the possible mechanism of fibroblast apoptosis was regulation of Bcl-2, Bax, cleaved caspase-3 protein expression.

Key words Dental alloys; Fibroblasts; Proliferation; Apoptosis

目前,齿科合金在口腔修复领域中广泛应用,在口腔中行使功能时,由于受到其复杂环境影响,从合金中析出的金属离子可能对口腔组织和细胞产生不良的影响,因此,研究齿科合金生物相容性问题一直

是研究者关注的热点^[1,2]。随着分子生物学的快速发展,对生物材料的相容性问题已从细胞水平和整体水平进入了分子水平。研究显示,从镍铬合金中析出的金属离子可抑制细胞增殖,降低细胞代谢,产生细胞毒性^[3]。目前从分子水平研究金属离子引起细胞增殖及凋亡的机制尚不清楚。因此,本研究检测了 3 种齿科合金对小鼠成纤维 L929 细胞增殖、凋亡的影响及诱导细胞凋亡的机制,以期从分子水平上对齿

基金项目:河南省医学科技攻关计划项目(201503076)

作者单位:473000 南阳医学高等专科学校第二附属医院口腔科(陈书宝);450000 郑州大学第一附属医院口腔科(张睿、李锐)

科材料的相容性提供实验依据。

材料与方法

1. 实验材料:小鼠成纤维细胞 L929 购自上海科鉴生物科技有限公司。

2. 实验试剂和仪器:青链霉素、胰酶、胎牛血清、RPMI1640 培养基均购自美国 Gibco 公司;金合金[组成(wt. %): Au86. 2 - Pt11. 5 - Zn1. 5 - Ru0. 4 - Ta0. 3 - Mn0. 1]来自 Heraeus; 镍铬合金[组成(wt. %): Ni(60 ~ 64) - Cr(19 ~ 23) - Mo4. 5]、铜合金[组成(wt. %): Cu(80 ~ 87) - Zn(12 ~ 20)]来自 Stellite; MTT 试剂盒、BCA 试剂盒、Annexin V - FITC 凋亡试剂盒均购自碧云天生物技术研究; Bcl - 2、Bax、cleaved caspase - 3 单克隆抗体及辣根过氧化物标记的二抗均购自美国 Abcam 公司; 倒置显微镜购自日本 OLYMPUS; CO₂ 细胞培养箱购自美国 SIM 公司; 酶标仪、电泳凝胶图像分析系统、聚丙烯酰胺凝胶电泳仪均购自 Bio - Rad 公司。

3. 实验方法: (1) 浸提液的制备: 参照 ISO 10993 - 5 的标准对牙科金属材料的生物相容性评价的浸提标准(0. 5 ~ 6. 0 cm²/ml), 每孔中加入含有 10% 胎牛血清的 RPMI1640 培养基 2ml, 同时设置阴性对照组, 置于 37℃、5% CO₂ 培养箱中培养 7 天后待用。 (2) 细胞培养: L929 细胞在含有 10% 胎牛血清、100 μg/ml 链霉素和 100U/ml 青霉素的 RPMI1640 培养基中, 置于 37℃、5% CO₂ 培养箱中培养。 2 ~ 3 天后, 观察到细胞密度达到 70% ~ 80% 时, 弃去培养瓶中的培养液, 加入 0. 25% 的胰蛋白酶消化 2 ~ 3min, 观察到细胞呈长梭形变圆时向培养瓶中加入 5ml 培养液, 吹打瓶壁使细胞脱落, 根据实验需要传代, 细胞进入对数生长期再用于后续的实验研究。 (3) 试验分组及加样培养: 根据 L929 细胞中金属浸提液的不同分为阴性对照组、金合金组、镍铬合金组和铜合金组。 取生长对数期的 L929 细胞, PBS 洗涤细胞 3 次, 加入按照上述分组的各组浸提液各 4ml 至培养瓶中, 每组设置 6 个重复, 置于 37℃、5% CO₂ 条件下培养 48h 后待测。 (4) 细胞增殖检测: 细胞与浸提液作用 48h 后, 每孔细胞中加入 20 μl 的 MTT 液(5g/L), 室温培养 4h, PBS 洗涤后再加入 DMSO(150 微升/孔), 室温条件下震荡反应 20min, 酶标仪测定 490nm 的吸光度(A), 计算细胞增殖率 P, 细胞增殖率 P = (各浸提液组 A 均值/阴性对照组 A 均值) × 100%。 细胞毒性的分级方法评分为: P 值 ≥ 100% 时, 细胞毒性为 0 级; P 值在 75% ~ 99% 时细胞毒性为 1 级; P 值在

50% ~ 74% 时细胞毒性为 2 级; P 值在 25% ~ 49% 时细胞毒性为 3 级; P 值在 1% ~ 24% 时细胞毒性为 4 级; P 值为 0 时细胞毒性为 5 级。 (5) 细胞周期检测: 将各组培养 48h 后的细胞制成单细胞悬液, 2000r/min 离心 5min, 弃去上清, 置于 70% 预冷的乙醇中固定 24h, 将细胞浓度调整为 10⁶ 个/毫升, 取出 1ml 的细胞悬液, PBS 洗涤细胞 3 次, 置于 1ml 的 DNA_{REP} Stain 染液中重悬, 37℃ 条件下孵育 30min, 上机, 流式细胞仪检测细胞周期变化。 (6) 细胞凋亡检测: 取培养 48h 后的各组细胞, 胰蛋白酶消化后调整细胞浓度为 (5 × 10⁵ ~ 1 × 10⁶) 个/毫升, 预冷的 PBS 洗涤细胞 2 次, 2000r/min 离心 5min, 收集 (1 ~ 5) × 10⁵ 的细胞, 加入 500 μl 的 Annexin - V 的结合缓冲液悬浮细胞, 再加入 5 μl 的 Annexin - V - FITC, 混合均匀后, 加入 PI 5 μl, 充分混匀后, 避光室温条件下反应 10min, 上机, 在 1h 内上流式细胞仪检测细胞凋亡率。 (7) Western blot 法检测 Bcl - 2、Bax、cleaved caspase - 3 蛋白表达: 收集培养 48h 后的各组细胞, 加入 200 μl 预冷的 RIPA 细胞裂解液, 置于冰上反应 30min, 超声波破碎 10s, 重复试验 2 次, 4℃, 12000r/min 离心 15min, 取得的上清即为细胞总蛋白, 取 10 μl 蛋白样品与上样缓冲液等体积混匀, 置于 100℃ 水中加热 5 ~ 10min 使蛋白变性, 配置 12% 分离胶及 5% 的浓缩胶, 聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS - PAGE)对蛋白进行分离, 浓缩胶电压为 90V, 分离胶电压为 160V, 电泳结束后转膜 2h, 转膜电流为 200mA, 脱脂奶粉 37℃ 条件下封闭 2h, 把膜放入 1: 1000 稀释的 Bcl - 2、Bax、cleaved caspase - 3 的一抗中, 4℃ 冰箱中孵育过夜, TBST 洗膜, 加入二抗(辣根过氧化物酶标记的羊抗鼠 IgG, 1: 1000 稀释), 37℃ 孵育 1h。 TBST 清洗后 ECL 发光剂显色, 拍照。

4. 统计学方法: 所有实验数据采用 SPSS 21.0 统计学软件进行统计分析, 计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 各组间差异比较采用单因素方差分析, 两组比较采用 *t* 检验, 以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

1. 不同齿科合金对 L929 细胞增殖的影响: MTT 实验检测不同齿科合金对 L929 细胞增殖的影响, 结果显示, 金合金组和镍铬合金组的细胞增殖率与阴性对照组差异无统计学意义(*P* > 0.05), 根据细胞毒性评定标准评为 1 级, 铜合金组细胞增殖率显著低于阴性对照组(*P* < 0.01), 根据细胞毒性评定标准评为 4 级(图 1)。

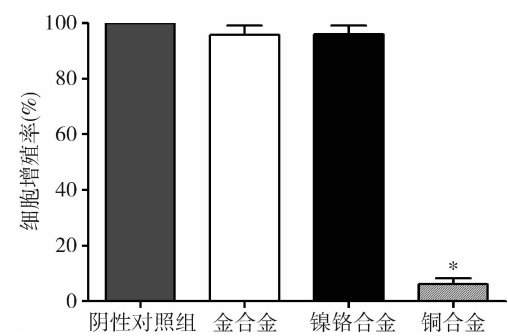


图1 不同齿科合金对 L929 细胞增殖的影响
与阴性对照组比较, * $P < 0.01$

2. 不同齿科合金对 L929 细胞周期的影响:流式细胞术检测不同齿科合金对 L929 细胞周期的影响,结果显示,金合金组 G_1 期、S 期和 G_2 期细胞与阴性对照组差异无统计学意义 ($P > 0.05$),镍铬合金组和铜合金组 G_1 期细胞显著低于阴性对照组, S 期和 G_2

期细胞显著高于阴性对照组 ($P < 0.05$,表 1)。

组别	细胞周期		
	G_1 期	S 期	G_2 期
阴性对照组	61.02 ± 0.56	30.13 ± 0.89	8.85 ± 0.74
金合金组	60.83 ± 0.47	30.19 ± 0.78	9.98 ± 0.67
镍铬合金组	$52.45 \pm 0.39^*$	$36.23 \pm 0.66^*$	$11.32 \pm 0.55^*$
铜合金组	$38.45 \pm 0.39^{**}$	$41.57 \pm 0.66^{**}$	$19.95 \pm 0.51^{**}$

与阴性对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

3. 不同齿科合金对 L929 细胞凋亡的影响:流式细胞术检测不同齿科合金对 L929 细胞凋亡率的影响,结果显示,金合金组细胞凋亡率与阴性对照组比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$),镍铬合金组和铜合金组细胞凋亡率均显著高于阴性对照组 ($P < 0.01$,图 2)。

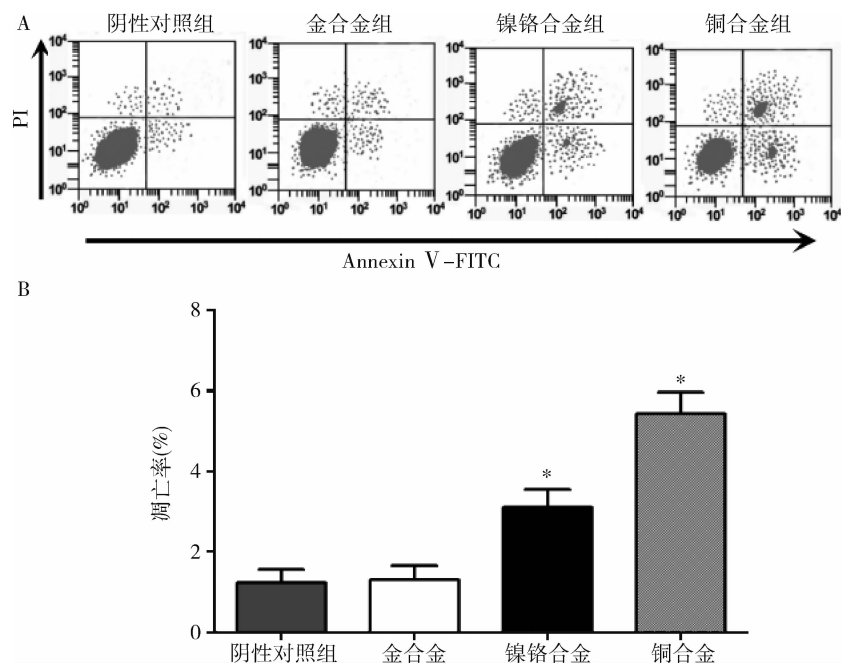


图2 不同齿科合金对 L929 细胞凋亡的影响
A. 流式细胞仪检测结果图;B. 细胞凋亡率;与阴性对照组比较, * $P < 0.01$

4. 不同齿科合金对 Bcl - 2、Bax、cleaved caspase - 3 蛋白表达的影响:Western blot 法检测不同齿科合金对 L929 细胞中 Bcl - 2、Bax、cleaved caspase - 3 蛋白表达的影响,结果显示,金合金组 Bcl - 2、Bax、cleaved caspase - 3 蛋白表达与阴性对照组比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$),镍铬合金组和铜合金组 Bax、cleaved caspase3 蛋白表达显著高于阴性对照组,

Bcl - 2 蛋白表达显著低于阴性对照组 ($P < 0.01$,图 3)。

讨 论

生物相容性是在研究齿科材料中始终贯穿的主题。口腔组织与齿科金属接触后,一方面口腔中的唾液会腐蚀金属,引起金属离子和其衍生物的生成,另一方面,被腐蚀的位置可对口腔组织产生基因毒性和

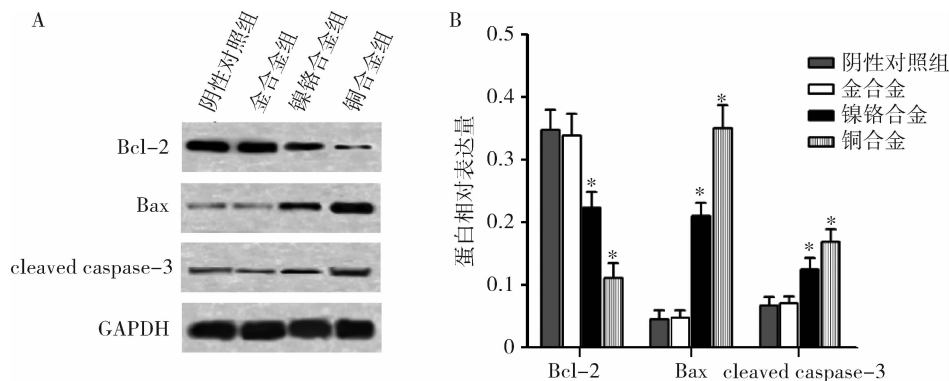


图3 不同齿科合金对 Bcl-2、Bax、cleaved caspase-3 蛋白表达的影响

A. Western blot 法检测结果; B. 蛋白相对表达量; 与阴性对照组比较, * $P < 0.01$

细胞毒性^[4,5]。因此,要对生物材料进行生物学评价。细胞毒性是评价生物材料相容性的方法之一,在医用金属中受到广泛关注^[6]。小鼠的 L929 细胞对金属离子的细胞毒性反应类似于人类的牙龈成纤维细胞,体外实验研究细胞毒性时常用其作为牙龈成纤维细胞的代替材料^[7]。MTT 方法最早是在免疫领域中应用,近些年该方法应用于评价生物材料的细胞毒性。与其他方法比较,MTT 方法具有重复性好、准确、客观等优点^[8]。研究显示,MTT 方法可通过检测细胞的生存能力及细胞增殖情况来评价印模材料的生物相容性,可用于检测义齿粘结剂的潜在细胞毒性和刺激性,评价氢氧化钙 + 碘伏与丁香油 + 氧化锌 + FC 等几种根充基材料的优越性^[9,10]。本研究通过 MTT 方法检测金合金、镍铬合金和铜合金对 L929 细胞毒性的影响,结果显示,金合金、镍铬合金的细胞增殖情况与对照组比较,差异无统计学意义,而铜合金细胞增殖显著低于对照组。

细胞凋亡是一种程序性死亡过程,由多个分子共同参与^[11]。近年来,生物材料与组织、细胞间的相互作用是否引起细胞凋亡及诱导凋亡的机制已成为研究生物材料的前沿课题^[12]。研究显示,异丁烯酸聚合体植入的口腔部位可发生细胞凋亡,口腔的预修复部位也观察到细胞的凋亡现象^[13]。凋亡过程受到多种基因的共同调控,其中 Bcl-2 家族蛋白和 caspase 家族蛋白在凋亡过程中研究最深入和最广泛^[14,15]。Bax 是 Bcl-2 家族的促凋亡基因, Bcl-2 是 Bcl-2 家族的抑凋亡基因, Bax 可与 Bcl-2 形成异二聚体,阻止 Bcl-2 的产生, Bcl-2 表达降低, Bax 表达升高,促进细胞的凋亡,反之则抑制细胞凋亡^[16-18]。caspase-3 是 caspase 家族的关键蛋白,是细胞凋亡过程中的关键酶,处在 caspase 级联反应的下游,可直

接导致细胞的凋亡^[19,20]。目前 Bcl-2、Bax 及 caspase-3 表达已应用于齿科材料是否引起细胞凋亡的评定。本研究结果显示,金合金、镍铬合金、铜合金均可引起细胞凋亡,镍铬合金、铜合金可显著升高细胞的凋亡率。金合金组 Bcl-2、Bax 及 cleaved caspase-3 蛋白表达与对照组差异不显著,镍铬合金、铜合金组 Bax 及 cleaved caspase-3 蛋白表达显著上调, Bcl-2 蛋白表达显著下调。

综上所述,金合金组、镍铬合金组和铜合金组对成纤维细胞增殖凋亡均有一定的影响,不同齿科合金引起成纤维细胞凋亡的机制可能与调控 Bcl-2、Bax、cleaved caspase-3 蛋白表达有关。金合金组对成纤维细胞增殖凋亡影响最小,但还需开展进一步研究。

参考文献

- 1 Milheiro A, Nozaki K, Kleverlaan CJ, *et al.* In vitro cytotoxicity of metallic ions released from dental alloys[J]. *Odontology*, 2016, 104 (2): 136-142
- 2 Lapcevic AR, Jevremovic DP, Puskar TM, *et al.* Comparative analysis of structure and hardness of cast and direct metal laser sintering produced Co-Cr alloys used for dental devices[J]. *Rapid Prototyping J*, 2016, 22(1): 144-151
- 3 Lee JJ, Song KY, Ahn SG, *et al.* Evaluation of effect of galvanic corrosion between nickel-chromium metal and titanium on ion release and cell toxicity[J]. *J Advanced Prosthodont*, 2015, 7(2): 172-177
- 4 Kim EC, Kim MK, Leesungbok R, *et al.* Co-Cr dental alloys induces cytotoxicity and inflammatory responses via activation of Nrf2/antioxidant signaling pathways in human gingival fibroblasts and osteoblasts[J]. *Dent Mater*, 2016, 32(11): 1394-1405
- 5 Pauksch L, Hartmann S, Rohnke M, *et al.* Biocompatibility of silver nanoparticles and silver ions in primary human mesenchymal stem cells and osteoblasts[J]. *Acta Biomater*, 2014, 10(1): 439-449
- 6 Souza KS, Jaimes RFVV, Rogero SO, *et al.* In Vitro Cytotoxicity Test and Surface Characterization of CoCrW Alloy in Artificial Saliva Solution for Dental Applications[J]. *Brazilian Den J*, 2016, 27(2): 181-186

- 7 Alves CBC, Segurado MN, Dorta MCL, *et al.* Evaluation of cytotoxicity and corrosion resistance of orthodontic mini - implants[J]. Dent Press J Orthod, 2016, 21(5): 39 - 46
- 8 Ostad SN, Rajabi A, Khademi R, *et al.* Cytotoxic Potential of *Centauria bruguierana* ssp. *belangerana*; The MTT Assay[J]. Acta Med Iran, 2016, 54(9): 583 - 589
- 9 Hass V, Luque - Martinez IV, Gutierrez MF, *et al.* Collagen cross - linkers on dentin bonding: Stability of the adhesive interfaces, degree of conversion of the adhesive, cytotoxicity and in situ MMP inhibition [J]. Den Mater, 2016, 32(6): 732 - 741
- 10 Zarrabi A, Shokrgozar MA, Vossoughi M, *et al.* In vitro biocompatibility evaluations of hyperbranched polyglycerol hybrid nanostructure as a candidate for nanomedicine applications[J]. J Mater Sci, 2014, 25(2): 499 - 506
- 11 Tao ZF, Wang X, Souers AJ, *et al.* Apoptosis - inducing agents for the treatment of cancer and immune and autoimmune diseases[J]. J Physiol, 2016, 586(18): 4541 - 4557
- 12 Erboga M, Kanter M. Effect of cadmium on trophoblast cell proliferation and apoptosis in different gestation periods of rat placenta[J]. Biolo Trace Element Res, 2016, 169(2): 285 - 293
- 13 Ogura T, Tanaka Y, Tamaki H, *et al.* Docetaxel induces Bcl - 2 - and pro - apoptotic caspase - independent death of human prostate cancer DU145 cells[J]. Int J Oncol, 2016, 48(6): 2330 - 2338
- 14 Ma Z, Yao M, Ren L, *et al.* In vitro evaluation of cell compatibility and hemocompatibility of a Cu - bearing titanium alloy [J]. Int J

Comput Mater Sci Surf Eng, 2016, 6(3 - 4): 228 - 243

- 15 Cali U, Cavkaytar S, Sirvan L, *et al.* Placental apoptosis in pre-eclampsia, intrauterine growth retardation, and HELLP syndrome: an immunohistochemical study with caspase - 3 and bcl - 2 [J]. Clin Exp Obstet Gynecol, 2013, 40(1): 45 - 48
- 16 Sitarek P, Ska E, Toma M, *et al.* A preliminary study of apoptosis induction in glioma cells via alteration of the Bax/Bcl - 2 - p53 axis by transformed and non - transformed root extracts of *Leonurus sibiricus* L. [J]. Tumor Biol, 2016, 37(7): 1 - 12
- 17 Su GP, Dai Y, Huang LQ, *et al.* Distribution of pathogenic bacteria and its influence on expression of BCL - 2 and BAX protein after HSCT in the patients with hematological malignancies[J]. Jou Exp Hemato, 2016, 24(3): 840 - 844
- 18 Karmakar I, Haldar S, Chakraborty M, *et al.* Regulation of apoptosis through bcl - 2/bax proteins expression and DNA damage by *Zanthoxylum alatum* [J]. Pharmaceut Biol, 2016, 54(3): 503 - 508
- 19 Lei Q, Bradford AM, Cooke PH, *et al.* Grb7 and Hax1 may colocalize partially to mitochondria in EGF - treated SKBR3 cells and their interaction can affect Caspase3 cleavage of Hax1 [J]. J Mol Recogn, 2016, 29(7): 318 - 333
- 20 王灯亮, 余良宏, 林章雅, 等. 辛伐他汀体外对人 U251 脑胶质瘤细胞增殖及凋亡的影响[J]. 中国老年学杂志, 2016, 36(12): 2837 - 2840

(收稿日期: 2017 - 04 - 20)

(修回日期: 2017 - 04 - 25)

(上接第 12 页)

- 8 Yannam GR, Gutti T, Poluektova LY. IL - 23 in infections, inflammation, autoimmunity and cancer: possible role in HIV - 1 and AIDS [J]. J Neuroimmune Pharmacol, 2012, 7(1): 95 - 112
- 9 Oppmann B, Lesley R, Blom B, *et al.* Novel p19 protein engages IL - 12p40 to form a cytokine, IL - 23, with biological activities similar as well as distinct from IL - 12 [J]. Immunity, 2000, 13(5): 715 - 725
- 10 Parham C, Chirica M, Timans J, *et al.* A receptor for the heterodimeric cytokine IL - 23 is composed of IL - 12Rbeta1 and a novel cytokine receptor subunit, IL - 23R [J]. J Immunol, 2002, 168(11): 5699 - 5708
- 11 Broxmeyer HE. Is interleukin 17, an inducible cytokine that stimulates production of other cytokines, merely a redundant player in a sea of other biomolecules? [J]. J Exp Med, 1996, 183(6): 2411 - 2415
- 12 Cua DJ, Tato CM. Innate IL - 17 - producing cells: the sentinels of the immune system[J]. Nat Rev Immunol, 2010, 10(7): 479 - 489
- 13 Kolls JK, Linden A. Interleukin - 17 family members and inflammation[J]. Immunity, 2004, 21(4): 467 - 476
- 14 Weaver CT, Hatton RD, Mangan PR, *et al.* IL - 17 family cytokines and the expanding diversity of effector T cell lineages[J]. Annu Rev Immunol, 2007, 25: 821 - 852
- 15 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

- 16 Ivanov II, McKenzie BS, Zhou L, *et al.* The orphan nuclear receptor RORgammat directs the differentiation program of proinflammatory IL - 17 + T helper cells[J]. Cell, 2006, 126(6): 1121 - 1133
- 17 Yang XO, Pappu BP, Nurieva R, *et al.* T helper 17 lineage differentiation is programmed by orphan nuclear receptors ROR alpha and ROR gamma [J]. Immunity, 2008, 28(1): 29 - 39
- 18 Tang C, Chen S, Qian H, *et al.* Interleukin - 23: as a drug target for autoimmune inflammatory diseases[J]. Immunology, 2012, 135(2): 112 - 124
- 19 Toussiot E. The IL23/Th17 pathway as a therapeutic target in chronic inflammatory diseases[J]. Inflamm Allergy Drug Targets, 2012, 11(2): 159 - 168
- 20 Marinoni B, Ceribelli A, Massarotti MS, *et al.* The Th17 axis in psoriatic disease: pathogenetic and therapeutic implications [J]. Auto Immun Highlights, 2014, 5(1): 9 - 19
- 21 Mease PJ. Inhibition of interleukin - 17, interleukin - 23 and the TH17 cell pathway in the treatment of psoriatic arthritis and psoriasis [J]. Curr Opin Rheumatol, 2015, 27(2): 127 - 133
- 22 Verstockt B, Van Assche G, Vermeire S, *et al.* Biological therapy targeting the IL - 23/IL - 17 axis in inflammatory bowel disease[J]. Expert Opin Biol Ther, 2017, 17(1): 31 - 47
- 23 Saito - Sasaki N, Sawada Y, Omoto D, *et al.* A possible pathogenetic role of IL - 23/IL - 17 axis in rheumatoid nodules in patients with rheumatoid arthritis[J]. Clin Immunol, 2016, 170: 20 - 21

(收稿日期: 2017 - 05 - 02)

(修回日期: 2017 - 05 - 02)