

外周血淋巴细胞和 CD4⁺ T 细胞在 类风湿关节炎中的表达和意义

郑小娟 段亚男 温鸿雁 李小峰

摘 要 **目的** 研究外周血淋巴细胞亚群绝对数量及 CD4⁺ T 细胞亚群绝对数量在类风湿关节炎患者中的表达机制及临床意义。**方法** 入组 137 例 RA 患者和 50 例健康人用流式细胞技术检测外周血淋巴细胞亚群及 CD4⁺ T 细胞亚群绝对计数,并收集临床资料包括性别、年龄、病程、DAS28 评分等;比较早期 RA 患者(病程≤2 年)与非早期 RA 患者(病程>2 年)淋巴细胞亚群及 CD4⁺ T 细胞亚群绝对计数,评估不同病程 RA 患者的免疫功能;比较初治(初发患者)、复治患者(使用 DMARDs≥6 个月)与健康人 CD4⁺ T 细胞亚群绝对计数,评估治疗与未治疗对 RA 患者免疫状态的影响;按 DSA28 评分分层,比较不同疾病活动组与健康对照组 Th17、Treg 细胞绝对计数及 Th17/Treg 比值的不同。**结果** RA 患者 Th 细胞明显高于健康对照组、NK 细胞明显低于健康对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$); Th1、Th2、Treg、Th1/Th2、Th17/Treg 与健康对照组比较,差异均有统计学意义($P<0.05$);非早期 RA 患者总 T、Th17 细胞明显低于早期 RA 患者,差异有统计学意义($P<0.05$);初治组、复治组与健康对照组 CD4⁺ T 细胞亚群比较,Th1、Th2、Th1/Th2、Th17/Treg 差异均有统计学意义($P<0.05$);在 RA 不同疾病活动分层中,Treg 细胞绝对数均低于健康对照组,Th17 细胞绝对数高于健康对照组。其中 $3.2< \text{DSA28} \leq 5.1$ 组 Th17 细胞绝对数与健康人比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。Th17/Treg 在 $\text{DSA28} \leq 3.2$ 组及 $3.2< \text{DSA28} \leq 5.1$ 组均明显高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 与健康人比较,Th1/Th2、Th17/Treg 平衡紊乱可能是 RA 发生、发展的重要机制,为临床医生进一步认识类风湿关节炎的发病和临床治疗提供了一定的基础认识。

关键词 类风湿关节炎 CD4⁺ T 细胞亚群 外周血辅助 T 细胞 17 调节性 T 细胞

中图分类号 R593.22

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2019.12.023

Expression and Significance of Peripheral Blood Lymphocytes and CD4⁺ T Cell Subsets in Rheumatoid Arthritis. Zheng Xiaojuan, Duan Yanan, Wen Hongyan, et al. Department of Rheumatology, the Second Hospital of Shanxi Medical University, Shanxi 030001, China

Abstract Objective To research the expression mechanism and clinical significance of absolute numbers of lymphocyte subsets and CD4⁺ T cell subsets in peripheral blood in patients with rheumatoid arthritis. **Methods** A total of 137 patients with RA and 50 healthy volunteers were enrolled. The lymphocyte subsets and CD4⁺ T cell subsets in peripheral blood were measured by FCM, and clinical data including gender, age, disease duration, DAS28 score were collected. The absolute counts of lymphocyte subsets and CD4⁺ T cell subsets in peripheral blood in early RA patients (disease duration≤2 years) and established RA patients (disease duration >2 years) were compared to evaluate the immune function of patients with different disease courses. The absolute counts of CD4⁺ T cell subsets in peripheral blood in first-therapy (newly diagnosed) and retherapy (DMARDs≥6 months) patients and healthy controls were compared to evaluate the effect of treatment and non-treatment on the immune status of RA patients. Stratified according to the DSA28 score, the absolute counts of Th17 cells and Treg cells and the ratio of Th17 versus Treg cells in peripheral blood between different disease activity groups and the healthy control group were compared. **Results** The levels of helper T cells in RA patients were significantly higher than those of healthy controls ($P<0.05$), while the levels of NK cells were significantly lower than those of healthy controls ($P<0.05$). The absolute counts of Th1, Th2, Treg and the ratio of Th1/Th2 and Th17/Treg in RA patients had significant differences compared with those in healthy controls ($P<0.05$). The levels of total T cells and Th17 cells in established RA patients were significantly lower than those in early RA patients. The absolute counts of Th1, Th2 and the ratio of Th1/Th2 and Th17/Treg in first-therapy and retherapy patients and healthy controls all had statistically significant differences ($P<0.05$). In RA patients with different disease activity scores, the absolute counts of Treg cells were all lower than those in healthy controls while the absolute counts of Th17 cells were all higher than those in

基金项目:山西省回国留学人员科研基金资助项目(2017-119);山西省留学回国人员科技活动择优基金资助项目(2017);山西省重点研发计划项目(201603D321074)

作者单位:030001 太原,山西医科大学第二医院风湿科

通讯作者:温鸿雁,主任医师,电子信箱:wenhongyan0509@aliyun.com

healthy controls, and only the absolute counts of Th17 cells in patients with $3.2 < \text{DSA28} \leq 5.1$ had statistically significant differences compared with healthy controls. The ratio of Th17/Treg in patients with $\text{DSA28} \leq 3.2$ and $3.2 < \text{DSA28} \leq 5.1$ were significantly higher than those in healthy controls ($P < 0.05$). **Conclusion** The imbalance of Th1/Th2 and Th17/Treg may play a vital role in pathogenesis of RA, providing a certain basis for clinicians to further understand the pathogenesis and clinical treatment of rheumatoid arthritis.

Key words Rheumatoid arthritis; CD4^+ T cell subsets; Th17 cell; Regulatory T cell

类风湿关节炎(RA)是一种慢性自身免疫性炎症性疾病,发生率为0.5%~1.0%,女性和老年人发生率较高^[1]。目前病因未明确,认为免疫失衡在其发病机制中具有重要作用。调节性T细胞(Treg)和辅助性T细胞17(Th17)是 CD4^+ T细胞的两个重要亚群。Th17细胞分泌IL-17,在人类和小鼠中IL-17具有促炎作用,且与许多炎症相关,而Treg则具有抑制炎症的作用,并参与了维持自身环境的免疫耐受。本研究采用流式细胞术(FCM)检测RA患者外周血淋巴细胞及 CD4^+ T细胞亚群的表达情况,并探讨其在RA发生、发展中的意义。

对象与方法

1. 研究对象:137例RA患者均为2017年5月~2018年8月笔者所在科室住院患者,其中,男性34例,女性103例;患者年龄14~86岁,平均年龄 51 ± 13 岁;病程0.05~38.00年,平均病程 7 ± 8 年。其诊断均符合美国风湿学会1987年的RA诊断标准,排除标准:严重肾脏、血液系统、心脏、肝脏及内分泌系统疾病患者;消化道疾病患者。要求纳入观察组的患者无干燥综合征、系统性红斑狼疮、结缔组织病等免疫疾病或影响免疫的相关疾病。同时收集50例来笔者医院健康体检者为健康对照组,其中,男性8例,女性42例;年龄20~66岁,平均年龄 42 ± 14 岁。病例组和对照组的年龄、性别等一般资料比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2. 研究方法:采集137例RA患者及50例正常人外周血,并收集它们的所有临床资料,包括性别、年龄、病程,用流式细胞仪技术(FCM)检测正常人和患者外周血淋巴细胞亚群绝对数、 CD4^+ T细胞亚群绝对数。山西医科大学第二临床医学院风湿免疫科实验室为该课题提供数据。

3. 主要设备及试剂:采用美国BD公司提供的FACS Calibur流式细胞仪。淋巴细胞检测使用试剂:单克隆抗体CD3/CD8/CD45/CD4; $\text{CD3/CD16}^+56^-/\text{CD45/CD19}$;Trucount管(内部含有数量可知的Beads);FACS Lysing Solution(溶血素)($10 \times$,使用前用蒸馏水稀释成 $1 \times$); CD4^+ T细胞亚群检测使用试剂:离

子霉素、胎牛血清、1640液、高尔基阻断剂、刺激素PMA购自美国Sigma公司。单克隆抗体CD4-FITC、IL-4-PE、IFN- γ -APC、IL-17-PE、CD25-APC、FoxP3-PE购自美国BD公司。

4. 淋巴细胞检测:两支Trucount管顺序分别编号A和B;将 $50 \mu\text{l}$ 尽量混匀的抗凝全血倒入到Tube中(使用的方法是反向加样法);另外再取CD3FITC/CD8PE/CD45PercP/CD4APC抗体 $20 \mu\text{l}$ 加入到A管中;取CD3FITC/CD16 $^+$ 56 $^-$ PE/CD45PercP/CD19APC抗体 $20 \mu\text{l}$ 加入到B管中。涡旋混匀,室温避光放置15~20min。将 $450 \mu\text{l}$ $1 \times$ FACS溶血素倒入其中,均匀混合,室温避光静置15min。24h内将A、B管放入检测仪上,在MultiSET软件上抽取15000个细胞进行检测。上机前应充分混匀。

5. Th细胞亚型标记:(1)Th1细胞、Th2细胞、Th17细胞培养与标记:在刺激剂 $10 \mu\text{l}$ PMA工作液(终浓度30ng/ml)、 $10 \mu\text{l}$ Ionomycin工作液(终浓度750ng/ml)和 $1 \mu\text{l}$ GolgiStop中分别加入 $80 \mu\text{l}$ 抗凝血,调整 CO_2 培养箱温度在 37°C ,并刺激上述试剂5h。将细胞分成A管和B管,将抗人CD4-FITC分别倒入A管和B管,在没有光照的室温下培育30min后,将配置不久的Fixation/Permeabilization液1ml分别倒入各管涡旋搅匀, 4°C 避光孵育30min后,将IL-4-PE和IFN- γ -APC加入A管,将抗人IL-17-PEB倒入B管。(2)Treg细胞标记:将CD4-FITC和CD25-APC分别加入 $80 \mu\text{l}$ 抗凝血,室温避光孵育30min后,A、B管分别加入新鲜配置的Fixation/Permeabilization液1ml涡旋混匀, 4°C 避光孵育30min后,加入抗人FOXP3抗体,在没有光照的室温下培育30min后,PBS清洗,上机测试。(3)流式细胞仪测定:24h内上流式细胞仪(Calibur,美国BD公司),并用流式细胞技术测定分析结果。根据对淋巴细胞设门区分淋巴细胞,该区分采用的是前向角散射光(FSC)及对侧向角散色光(SSC)的散点图,区分Th细胞(CD4^+)的方法是通过CD4对SSC设门,选择门内10000个细胞,以CellQuest软件取得、分析相应百分数,并推算出绝对数量。

6. 统计学方法:数据采用 SPSS 20.0 统计学软件对数据进行统计分析;数值变量不服从常态分布,采用中位数(四分位数)法进行统计描述;两样本比较采用 *Mann - Whitney U* 检验;组间比较采用方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. RA 与健康人淋巴细胞绝对计数的比较:RA 患者 Th 细胞明显高于健康对照组、NK 细胞明显低于健康对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$),详见表 1。

表 1 两组外周血淋巴细胞绝对数[个/微升,M(P_{25} , P_{75})]

组别	健康对照组($n = 50$)	RA 组($n = 137$)	<i>Z</i>	<i>P</i>
总 T	1242.00(1070.00,1592.25)	1276.01(984.80,1574.55)	-0.511	0.609
总 B	166.50(132.00,229.50)	181.73(122.54,272.58)	-0.508	0.611
Th	639.00(543.00,787.50)	766.96(588.08,951.93)	-2.473	0.013
Ts	428.00(333.25,546.00)	423.08(283.64,546.92)	-0.794	0.427
Th/Ts	1.64(1.27,2.07)	1.92(1.35,2.43)	-1.694	0.090
NK	300.00(189.00,412.00)	194.78(132.83,325.04)	-3.587	0.000
T + B + NK	1752.50(1534.50,2171.25)	1726.17(1349.21,2292.87)	-0.861	0.389

2. RA 患者与健康组 CD4⁺T 细胞绝对计数的比较:除 Th17 细胞外,其 Th1、Th2、Treg、Th1/Th2、Th17/Treg 与健康对照组比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$),详见表 2。

较:非早期 RA 患者总 T 明显低于早期 RA 患者,差异有统计学意义($P < 0.05$),详见表 3。

4. 早期 RA 与非早期 RA 患者 CD4⁺T 细胞绝对计数的比较:非早期 RA 患者 Th17 细胞明显低于早期 RA 患者,差异有统计学意义($P < 0.05$),详见表 4。

3. 早期 RA 与非早期 RA 淋巴细胞绝对计数的比

表 2 两组外周血 CD4⁺T 细胞绝对计数[个/微升,M(P_{25} , P_{75})]

组别	健康对照组($n = 50$)	RA 组($n = 137$)	<i>Z</i>	<i>P</i>
Th1	38.97(8.69,96.25)	105.48(64.70,182.52)	-5.485	0.000
Th2	10.80(5.56,15.83)	7.23(4.45,9.82)	-4.039	0.000
Th17	5.45(4.06,7.40)	6.22(3.56,9.21)	-0.835	0.404
Treg	29.30(21.62,42.07)	24.90(14.58,36.83)	-2.112	0.035
Th1/Th2	3.23(0.92,8.08)	16.51(10.60,30.58)	-8.247	0.000
Th17/Treg	0.17(0.14,0.32)	0.25(0.16,0.40)	-2.474	0.013

表 3 两组外周血淋巴细胞绝对数[个/微升,M(P_{25} , P_{75})]

组别	早期 RA 组($n = 50$)	非早期 RA 组($n = 87$)	<i>Z</i>	<i>P</i>
总 T	1357.84(1080.42,1675.81)	1233.25(925.78,1532.21)	-2.012	0.044
总 B	198.65(144.64,287.59)	168.97(114.42,261.71)	-1.574	0.116
Th	835.61(635.50,991.58)	731.05(580.75,922.95)	-1.462	0.144
Ts	468.05(318.98,620.24)	403.69(257.42,523.77)	-1.636	0.102
Th/Ts	1.84(1.32,2.23)	1.94(1.35,2.45)	-0.751	0.453
NK	197.10(140.42,274.63)	188.84(128.70,345.68)	-0.027	0.979
T + B + NK	1840.83(1477.41,2346.46)	1659.30(1224.70,2260.87)	-1.475	0.140

表 4 两组外周血 CD4⁺T 细胞绝对数[个/微升,M(P_{25} , P_{75})]

组别	早期 RA 组($n = 50$)	非早期 RA 组($n = 87$)	<i>Z</i>	<i>P</i>
Th1	116.85(76.15,197.51)	101.39(59.62,168.48)	-1.359	0.174
Th2	7.35(4.46,10.35)	6.91(4.43,9.63)	-0.501	0.617
Th17	7.95(4.59,10.53)	5.28(3.43,8.48)	-2.689	0.007
Treg	25.41(19.92,36.79)	23.77(13.83,37.76)	-1.091	0.275
Th1/Th2	19.53(11.25,33.13)	15.80(10.56,29.00)	-1.156	0.248
Th17/Treg	0.29(0.17,0.47)	0.25(0.15,0.40)	-1.252	0.210

5. 外周血 CD4⁺T 细胞绝对计数的比较:初治组、复治组与健康对照组 CD4⁺T 细胞亚群比较,Th1、

Th2、Th1/Th2、Th17/Treg 均有统计学意义 ($P < 0.05$),详见表 5。

表 5 3 组外周血 CD4⁺T 细胞绝对数的比较[个/微升, $M(P_{25}, P_{75})$]

组别	健康对照组 ($n = 50$)	初治组 ($n = 59$)	复治组 ($n = 78$)
Th1	38.97 (8.69, 96.25)	101.72 (70.45, 165.39) **	105.79 (62.01, 210.61) **
Th2	10.80 (5.56, 15.83)	7.27 (3.84, 9.36) **	6.92 (4.50, 9.91) **
Th17	5.45 (4.06, 7.40)	5.67 (3.38, 9.23)	6.70 (3.97, 9.32)
Treg	29.30 (21.62, 42.07)	24.90 (14.37, 36.74)	24.98 (14.62, 37.39)
Th1/Th2	3.23 (0.92, 8.08)	15.67 (11.03, 29.44) **	18.68 (9.45, 31.63) **
Th17/Treg	0.17 (0.14, 0.32)	0.28 (0.15, 0.45) *	0.25 (0.16, 0.40) **

与健康对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

6. 不同疾病活动分层中,Th17、Treg、Th17/Treg 细胞绝对数的变化:在低活动组和中活动组中 Th17 细胞绝对数高于健康对照组,其中 $3.2 < \text{DSA28} \leq 5.1$ 组 Th17 细胞绝对数与健康人的比较,差异有统计学

意义 ($P < 0.05$)。Th17/Treg 在 $\text{DSA28} \leq 3.2$ 组及 $3.2 < \text{DSA28} \leq 5.1$ 组均明显高于对照组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),详见表 6。

表 6 不同疾病活动分层 Th17、Treg、Th17/Treg 细胞绝对数的变化[个/微升, $M(P_{25}, P_{75})$]

组别	n	Th17	Treg	Th17/Treg
健康对照组	50	5.45 (4.06, 7.40)	29.30 (21.62, 42.07)	0.17 (0.14, 0.32)
$\text{DSA28} \leq 3.2$	6	7.34 (2.59, 17.63)	19.82 (13.69, 27.27)	0.59 (0.12, 0.78) *
$3.2 < \text{DSA28} \leq 5.1$	69	7.07 (4.67, 10.46) *	25.85 (17.41, 37.83)	0.28 (0.17, 0.39) *
$\text{DSA28} > 5.1$	62	4.96 (2.60, 7.39) #	23.61 (14.01, 33.30)	0.23 (0.14, 0.39) ^Δ

与健康对照组比较, * $P < 0.05$; 与 $3.2 < \text{DSA28} \leq 5.1$ 比较, # $P < 0.05$; 与 $\text{DSA28} \leq 3.2$ 比较, ^Δ $P < 0.05$

讨 论

RA 是一种慢性自身免疫性疾病,尽管发病机制不明确,但已认识到 RA 与机体免疫功能相关。研究表明 Th/Ts 细胞的平衡,在自身免疫性疾病的发生、发展过程中起重要作用。此外 NK 细胞存在 RA 患者的滑膜液中,被认为在骨破坏中起重要作用^[2]。本研究结果显示,RA 患者 Th 细胞在外周血淋巴细胞中所占的绝对计数明显高于正常人,说明 Th 细胞参与 RA 疾病的发病。并且 NK 细胞在外周血中所占的绝对计数明显低于正常人。究其原因,有研究指出,NK 细胞功能与运动之间有一定联系,包括血运、缺氧和体温调节对 NK 细胞功能的影响^[3]。由此可知,可能是多种因素导致 RA 中 NK 细胞绝对数量及功能降低,进而影响其发挥免疫调节作用,而不完全是 RA 疾病本身所导致的数量减少。

另有研究表明,CD4⁺T 细胞亚群中 Th1、Th2 等异常在 RA 的发生、发展中发挥重要作用^[4]。以前多数认为 RA 是由 Th1 驱动的疾病,Th1 细胞与炎症有关,而 Th2 细胞在一定程度上有抗炎作用。有实验对 RA 纵向研究发现,在 RA 早期的 PBMCs 中,Th2 反应

占主导地位,而长期慢性 RA 表现出 Th1 占主导反应^[5]。可知 Th1 或 Th2 反应是否在 RA 中占主导作用可能取决于多种因素,包括患者年龄、RA 分期(早期或晚期)以及病情所在位置(PBMCs 或滑膜液)。本研究结果发现,RA 患者 Th1 细胞在外周血淋巴细胞所占的绝对计数明显高于健康对照组,该结果与陈俊伟等^[6]的研究结果相近,说明 Th1 细胞在 RA 疾病的发病中起到一定的作用。Th2 细胞在外周血淋巴细胞所占的绝对计数明显低于健康对照组,且 Th1/Th2 在外周血淋巴细胞所占的比例明显高于健康对照组,两者比较差异均有统计学意义,提示 Th1、Th2 与 RA 发病均有一定的相关性,且 Th1/Th2 失衡在 RA 的发病起关键作用。

有研究认为 Th17 来源的细胞因子通过诱导 IL-6、GM-CSF、IL-8 等来吸引不同类型细胞,尤其是 IL-17A 和 IL-17F 是参与 RA 发病机制的关键细胞因子,此外,Th17 细胞产生的 IL-21 促进 B 细胞分化为产生自身抗体的浆细胞,并以自分泌方式放大 Th17 细胞反应^[7]。

本研究显示,RA 患者 Th17 细胞计数比健康对

对照组高,两者比较差异无统计学意义,与贾瑞环等^[8]的研究结果相一致。某种程度上说明 Th17 细胞在 RA 中起到的作用有限。Liu 等^[9]从大鼠淋巴细胞检测 Th17/Treg 细胞比例,与对照组比较,大鼠关节炎 Treg 细胞表达水平明显下降,IL-17 表达水平明显升高,本研究结果与该研究结果相矛盾。尽管许多研究结果不全相同,但普遍认为 Th17 细胞某种程度上参与 RA 疾病进展。也有研究显示,STAT3 对 Th17 细胞分化有着关键的作用,上调 STAT3 促进 Th17 细胞分化,下调 STAT3 抑制 Th17 细胞分化,由此可以通过影响 STAT3 诱导 Th17 细胞向有利的方向分解^[10, 11]。

与 Dong 等^[12]的研究结果一致,本研究结果也证实了 RA 患者外周血 Treg 细胞绝对数比正常人明显降低,且 Th17/Treg 比值比健康对照组明显升高,两者比较差异均有统计学意义。说明 Treg 细胞绝对数量减少及功能降低是造成 RA 发病的关键因素,且 Th17/Treg 平衡紊乱在 RA 的发展中发挥关键作用。在人类中,Th17 细胞可以诱导 IL-6、IL-1 β 和 TNF- α ,所有这些在活动性 RA 患者发炎的关节中都很多,并直接参与软骨和骨的破坏^[13]。虽然通常认为 Th1 和 Th17 细胞在 RA 的进展中发挥重要作用,Evans 等^[14]进一步研究报道,体内自发激活了从 RA 患者炎症关节中提取的 CD14⁺ 单核细胞,并特异性诱导 Th17,而非 Th1 或 Th2 反应。可知,在 RA 患者中增多的 Th17 细胞激活同时受体内自身因素影响。

有研究显示,在体外骨髓源性抑制细胞(MDSCs)抑制小鼠 CD4⁺ T 细胞 IL-17 表达,上调 FOXP3 表达^[15]。体内注射 MDSCs 可明显改善炎症性关节炎。经 MDSCs 处理的小鼠脾脏 Th17 细胞和 Th1 细胞减少,Treg 增加,提示 MDSCs 可能是治疗自身免疫性疾病的有效策略。通过不同方式调节 Th17/Treg 失衡将成为纠正免疫稳态的重要途径。

本研究显示,非早期 RA 患者外周血总 T 细胞绝对数明显低于早期 RA 患者,说明非早期 RA 患者免疫力更低,随着疾病进展,淋巴细胞在外周血中的绝对数明显减少,表明非早期 RA 患者更容易发生感染。而非早期 RA 患者 Th17 细胞绝对数明显低于早期 RA 患者,差异有统计学意义,其一可能与 RA 患者长期使用 DMARDs 药物治疗导致免疫抑制的结果,其二也可能与 RA 的分期(早期或非早期)以及病情所在的位置(PBMCs 或滑膜液)相关联。同时本研究对 59 例初治 RA 患者、78 例复治 RA 患者与 50 例

健康人比较,发现 Th17/Treg 细胞比值较健康人明显升高,提示初治患者及使用 DMARDs 药物治疗的复治患者均存在免疫失调,间接反应出长期使用 DMARDs 药物治疗不能很好地控制疾病进展。

为寻找更好的治疗方案,Jhun 等^[16]研究显示,二甲双胍和辅酶 Q10 联合应用减少关节炎症、Th17 分化和 IgG 生成,诱导 Treg 分化,降低破骨细胞生成,且二者的结合促进了线粒体 O₂ 的消耗,二甲双胍和辅酶 Q10 联合使用可降低 CIA 的严重程度,改善线粒体功能障碍,该研究为类风湿关节炎提供了新的治疗策略。此外,本研究将 137 例 RA 患者根据疾病活动度进行分层,分为低活动组、中活动组、高活动组,发现随着疾病活动度的增高,在低活动组和中活动组中 Th17 细胞绝对数明显高于健康对照组,同时 Th17/Treg 在 DSA28 $\leq$ 3.2 组及 3.2 < DSA28 $\leq$ 5.1 组均明显高于对照组,提示疾病活动度增高时,Th17/Treg 也随着增高。可知 Th17/Treg 与疾病活动度有关联。

综上所述,Th17/Treg 细胞可能在 RA 的发病中发挥着重要的作用,但它们之间的相互抑制、相互作用的关系,仍不明确,有待于今后进一步研究。

参考文献

- Feng Z, Zhai Y, Zheng Z, *et al.* Loss of A20 in BM-MSCs regulates the Th17/Treg balance in rheumatoid arthritis[J]. *Sci Rep*, 2018,8(1):427
- Yamin R, Berhani O, Peleg H, *et al.* High percentages and activity of synovial fluid NK cells present in patients with advanced stage active rheumatoid arthritis[J]. *Sci Rep*, 2019,9(1):1351-1362
- Idorn M, Hojman P. Exercise-dependent regulation of NK cells in cancer protection[J]. *Trends Mol Med*, 2016,22(7):565-577
- Zhu M, Xu Q, Li X, *et al.* Experimental immunology modulating effects of leflunomide on the balance of Th17/Treg cells in collagen-induced arthritis DBA/1 mice[J]. *Central Eur J Immunol*, 2014,39(2):152-158
- Pei T, Chen QH, Lan QF. Role of basophils in rheumatoid arthritis (Review)[J]. *Exp Therapeut Med*, 2015,9(5):1567-1571
- 陈俊伟, 张少然, 闫成兰, 等. Th17/调节性 T 细胞在类风湿关节炎中的作用及其意义[J]. *中华风湿病学杂志*, 2012,16(4):229-232
- Schinnerling K, Aguilón JC, Catalán D, *et al.* The role of interleukin-6 signalling and its therapeutic blockage in skewing the T cell balance in rheumatoid arthritis[J]. *Clin Exp Immunol*, 2017,189(1):12-20
- 贾瑞环, 李小峰. 类风湿关节炎患者外周血 Th17 和调节性 T 细胞的绝对数量及小剂量 IL-2 对其影响[D]. 太原:山西医科大学, 2018

(下转第 145 页)

- 3 Neef S, Dybkova N, Sossalla S, *et al.* CaMKII – dependent diastolic SR Ca^{2+} leak and elevated diastolic Ca^{2+} levels in right atrial myocardium of patients with atrial fibrillation[J]. *Circ Res*, 2010, 106(6): 1134 – 1144
- 4 Nattel S. Cell calcium, repolarization changes, and spontaneous post-shock fibrillation in failing hearts: causes of refibrillation and electrical storm [J]. *Heart Rhythm*, 2009, 6(6):793 – 795
- 5 Bers DM, Eisner DA, Valdivia HH. Sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} and heart failure: roles of diastolic leak and Ca^{2+} transport [J]. *Circ Res*, 2003, 93(6):487 – 490
- 6 Shannon TR, Lew WY. Diastolic release of calcium from the sarcoplasmic reticulum; a potential target for treating triggered arrhythmias and heart failure [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2009, 53(21):2006 – 2008
- 7 Liu T, Shi SB, Qin M, *et al.* Effects of dantrolene treatment on ventricular electrophysiology and arrhythmogenesis in rats with chronic β – adrenergic receptor activation [J]. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*, 2015, 20(4):414 – 427
- 8 Kobayashi S, Yano M, Suetomi T, *et al.* Dantrolene, a therapeutic agent for malignant hyperthermia, markedly improves the function of failing cardiomyocytes by stabilizing interdomain interactions within the ryanodine receptor[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2009, 53(21):1993 – 2005
- 9 Kobayashi S, Yano M, Uchinoumi H, *et al.* Dantrolene, a therapeutic agent for malignant hyperthermia, inhibits catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia in a RyR2^{R2474S/+} knock – in mouse model [J]. *Circ J*, 2010, 74(12):2579 – 2584
- 10 Maxwell JT, Domeier TL, Blatter LA. Dantrolene prevents arrhythmogenic Ca^{2+} release in heart failure [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2012, 302(4): H953 – H963
- 11 Zamiri N, Massé S, Ramadeen A, *et al.* Dantrolene improves survival after ventricular fibrillation by mitigating impaired calcium handling in animal models[J]. *Circulation*, 2014, 129(8):875 – 885
- 12 Salata JJ, Jalife J. Effects of dantrolene sodium on the electrophysiological properties of canine cardiac Purkinje fibers [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 1982, 220(1):157 – 166
- 13 Davidenko J, Delmar M, Oates R, *et al.* Electrophysiological actions of dantrolene sodium in isolated sinoatrial and atrioventricular nodes and in a model of ischemia[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 1986, 238

- (1):206 – 216
 - 14 Pong SF, Demuth SM, White RL Jr. Effect of dantrolene sodium on [3H] nitrendipine binding to rat cardiac plasma membranes [J]. *J Pharm Pharmacol*, 1985, 37(11): 830 – 832
 - 15 Fratea S, Langeron O, Lecarpentier Y, *et al.* In vitro effects of dantrolene on rat myocardium [J]. *Anesthesiology*, 1997, 86(1): 205 – 215
 - 16 Meissner A, Szymanska G, Morgan JP. Effects of dantrolene sodium on intracellular Ca^{2+} – handling in normal and Ca^{2+} overloaded cardiac muscle [J]. *Eur J Pharmacol*, 1996, 316(2 – 3): 333 – 342
 - 17 Meyler MJ, Wesseling H, Agoston S. The effects of dantrolene sodium on cardiac and skeletal muscle in rats [J]. *Eur J Pharmacol*, 1976, 39(1): 127 – 131
 - 18 Robillart A, Bopp P, Vailly B, *et al.* Cardiac failure caused by an overdose of dantrolene [J]. *Ann Fr Anesth Reanim*, 1986, 5(6): 617 – 619
 - 19 Salata JJ, Wasserstrom JA, Jalife J. Dantrolene sodium; effects on isolated cardiac tissues[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 1983, 15(4): 233 – 243
 - 20 Min JY, Meissner A, Feng X, *et al.* Dantrolene; effects on abnormal intracellular Ca^{2+} handling and inotropy in postinfarcted rat myocardium[J]. *Eur J Pharmacol*, 2003, 471(1): 41 – 47
 - 21 Inserte J, Barba I, Hernando V, *et al.* Delayed recovery of intracellular acidosis during reperfusion prevents calpain activation and determines protection in postconditioned myocardium [J]. *Cardiovasc Res*, 2009, 81(1):116 – 122
 - 22 Mattiazzi A, Argenziano M, Aguilar – Sanchez Y, *et al.* Ca^{2+} Sparks and Ca^{2+} waves are the subcellular events underlying Ca^{2+} overload during ischemia and reperfusion in perfused intact hearts[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2015, 79:69 – 78
 - 23 Balam Ortiz EO, Carvajal K, Cruz D. Protective effect of dantrolene in post – ischemic reperfusion myocardial damage [J]. *Arch Inst Cardiol Mex*, 1999, 69(4):311 – 319
 - 24 Yu G, Zucchi R, Ronca – Testoni S, *et al.* Protection of ischemic rat heart by dantrolene, an antagonist of the sarcoplasmic reticulum calcium release channel[J]. *Basic Res Cardiol*, 2000, 95(2): 137 – 143
- (收稿日期:2019 – 03 – 03)
(修回日期:2019 – 04 – 03)

(上接第 95 页)

- 9 Liu J, Hong X, Lin D, *et al.* Artesunate influences Th17/Treg lymphocyte balance by modulating Treg apoptosis and Th17 proliferation in a murine model of rheumatoid arthritis[J]. *Exp Therapeut Med*, 2017, 13(5):2267 – 2273
- 10 项海燕, 潘峰, 鄢巨振, 等. 过表达 miR – 498 通过下调 STAT3 抑制类风湿性关节炎患者 Th17 细胞分化[J]. *生理学报*, 2018, 70(2):167 – 174
- 11 Tripathi SK, Chen Z, Larjo A, *et al.* Genome – wide analysis of STAT3 – mediated transcription during early human Th17 cell differentiation[J]. *Cell Rep*, 2017, 19(9):1888 – 1901
- 12 Dong L, Wang X, Tan J, *et al.* Decreased expression of microRNA – 21 correlates with the imbalance of Th17 and Treg cells in patients with rheumatoid arthritis[J]. *J Cell Mol Med*, 2014, 18(11):2213 – 2224

- 13 Pauley KM, Satoh M, Chan AL, *et al.* Upregulated miR – 146a expression in peripheral blood mononuclear cells from rheumatoid arthritis patients[J]. *Arthritis Res Ther*, 2008, 10(4):101 – 110
 - 14 Evans HG, Gullick NJ, Kelly S, *et al.* In vivo Activated monocytes from the site of inflammation in humans specifically promote Th17 responses[J]. *PNAS*, 2009, 106(15):6232 – 6237
 - 15 Park M, Lee S, Kim E, *et al.* Interleukin – 10 produced by myeloid – derived suppressor cells is critical for the induction of Tregs and attenuation of rheumatoid inflammation in mice[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 3753 – 3762
 - 16 Jhun JY, Lee SH, Kim SY, *et al.* Combination therapy with metformin and coenzyme Q10 in murine experimental autoimmune arthritis [J]. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 2016, 38(2):103 – 112
- (收稿日期:2019 – 03 – 20)
(修回日期:2019 – 04 – 15)