

黄芪糖蛋白对胶原诱导性关节炎小鼠脾组织 T-bet 及 GATA-3 表达的影响

张娜¹ 赵俊云¹ 薛慧清² 刘慧¹ 李彩彩¹ 杨向竹¹ 周然²

(1 北京中医药大学基础医学院,北京,100029; 2 山西中医学院,太原,030024)

摘要 目的:探讨黄芪糖蛋白对胶原诱导性关节炎(Collagen-induced Arthritis, CIA)小鼠特异性转录因子 T-bet 和 GATA-3 表达的影响,阐述黄芪糖蛋白治疗胶原诱导性关节炎小鼠的免疫作用机制。方法:建立牛Ⅱ型胶原诱导的小鼠关节炎模型,随机分为 CIA 模型组、氢化可的松阳性对照组、黄芪糖蛋白低剂量组、中剂量组、高剂量组;HE 染色观察 CIA 小鼠脾组织损伤程度;采用流式细胞术检测 CIA 小鼠外周血 IFN- γ 和 IL-4 的水平;Western blot 法检测 CIA 小鼠脾组织中 T-bet 和 GATA-3 蛋白的表达。结果:与模型组比较,黄芪糖蛋白改善了 CIA 小鼠脾组织损伤情况,减轻炎症反应细胞浸润,下调了外周血 IFN- γ 和 IL-4 水平($P < 0.05$);同时,降低了 T-bet 和 GATA-3 蛋白的表达($P < 0.05$)。结论:黄芪糖蛋白对 CIA 小鼠的治疗作用,可能是与降低 T-bet、GATA-3 表达,调整 Th1/Th2 功能失衡有关。

关键词 黄芪糖蛋白;牛Ⅱ型胶原诱导性关节炎小鼠;GATA-3;T-bet

Effect of Astragalus Glycoproteins on T-bet and GATA-3 Expression in Mice Spleen with Collagen-induced Arthritis

Zhang Na¹, Zhao Junyun¹, Xue Huiqing², Liu Hui¹, Li Caicai¹, Yang Xiangzhu¹, Zhou Ran²

(1 School of Basic Medical Science, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China;

2 Shanxi University of Traditional Chinese Medicine, Taiyuan 030024, China)

Abstract Objective: To explore the effects of Astragalus glycoproteins on collagen-induced arthritis mice's specific transcription factors, T-bet and GATA-3, expression, and to clarify the immune mechanism of Astragalus glycoprotein on the treatment in collagen-induced arthritis mice. **Methods:** CIA model was induced by bovine Ⅱ collagen in mice. Mice were randomly divided into a CIA model group, a hydrocortisone positive control group, a Astragalus glycoprotein low dose group, a middle dose group and a high dose group. HE was used to observe the CIA mice spleen tissues damage. IFN- γ and IL-4 level were measured with flow cytometry in CIA mice. Western blot was used to analyze T-bet and GATA-3 protein expression. **Results:** Compared with the model group, Astragalus glycoprotein improved spleen tissue damage in CIA mice, and inhibited the infiltration of inflammatory cells. Astragalus glycoprotein reduced IFN- γ and IL-4 level ($P < 0.05$) and T-bet and GATA-3 protein expression ($P < 0.05$). **Conclusion:** The mechanisms of action of Astragalus glycoprotein on CIA mice may be related to the decrease of T-bet and GATA-3 expression and function balance of the Th1 and Th2 cells.

Key Words Astragalus glycoprotein; CIA; GATA-3; T-bet

中图分类号:R285.5 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2017.05.039

类风湿关节炎(Rheumatoid Arthritis, RA)是一个以累及周围关节为主的多系统炎性反应性的自身免疫性疾病^[1],在世界范围内患病率为0.01%~1.07%不等,最终将导致关节畸形、功能丧失,具有很高的致残率。因RA病因和发病机制尚不明确,目前对RA尚无特效治疗方法。研究已证明正常生理状态下Th1与Th2细胞分化存在着一种动态平衡与交互抑制,Th1/Th2细胞分化的动态平衡一旦被打破,T细胞就会朝着Th1细胞分化占优势或Th2

细胞分化占优势的“漂移状态”发展,机体因此而发病。因此T细胞亚群Th1、Th2分化失衡被认为是诱导RA发病的中心环节。

黄芪的药理研究显示其具有良好的抗炎、镇痛和免疫调节等作用,但黄芪对RA Th1/Th2漂移的干预实验还鲜有报道。黄芪糖蛋白(Huang Qi Glycoprotein, HQGP)是本研究组从膜荚黄芪中提取到一种具有免疫抑制活性的物质,并已申请专利^[2]。实验研究表明HQGP对小鼠脾淋巴细胞体外增殖具有

基金项目:国际科技合作专项(编号:2013DFA30700)

作者简介:张娜(1987.11—),女,硕士研究生,研究方向:免疫药理学方向,E-mail:zhangnaanna@126.com

通信作者:杨向竹(1970.11—),女,博士,副教授,中医学院实验教学中心副主任,研究方向:中药的现代物质基础,E-mail:xiangzhu@126.com

明显的抑制作用^[3,4]。体内实验发现 HQGP 对大鼠佐剂性关节炎(AA)的关节炎性反应有明显的改善作用^[5]。本文复制小鼠 CIA 模型,通过病理形态学观察、特异转录因子的表达,初步探讨 HQGP 对 CIA 小鼠的免疫作用机制。本实验是以 Th1、Th2 的 2 个特异性转录因子 T-bet 和 GATA-3 来观察 CIA 小鼠的 Th1/Th2 细胞分化及 HQGP 干预后表达变化,以期揭示 HQGP 对 CIA 的作用机制。

1 材料与方法

1.1 动物 BALB/c 雄性小鼠,60 只,体重 16~18 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)2009-0015)。

1.2 药物 HQGP 乳剂,由山西中医学院提供。

1.3 试剂与仪器 弗氏完全佐剂, sigma 公司;胶原蛋白 II 型(牛), Chondrex 公司; Anti-T-bet Purified、Anti-GATA-3 Purified eBioscience 公司; β -actin、HRP 标记羊抗兔 IgG, 北京博奥森生物技术有限公司; HRP 标记羊抗小鼠 IgG、四甲基乙二胺(N,N,N',N'-tetramethylenediamine, TEMED), 北京康为世纪生物科技有限公司; 苯甲基磺酰氟(Phenyl Methyl sulfonyl fluoride, PMSF)、聚偏氟乙烯(Polyvinylidene Fluoride, PVDF)微孔转移膜、超敏 ECL 化学发光试剂盒、Tween-20、浓缩胶缓冲液(Upper stock or stacking buffer)、分离胶缓冲液(Lower stock or separating buffer)、过硫酸铵(Ammonium Persulfate, AP)、5%脱脂奶粉、Tris、SDS、BCA 蛋白定量试剂盒,均由 Solarbio 公司提供; Cell Stimulation Cocktail(PMA + Ionomycin + BFA), Sigma 公司; APC/Cy7 anti-mouse CD3、FITC anti-mouse CD4、PE anti-mouse IL-4、APC anti-mouse IFN- γ , 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。

1.2 方法

1.2.1 分组与模型制备

1.2.1.1 分组 将造模成功的小鼠 50 只随机分为模型组(CIA)、氢化可的松(HC, 10 mg/kg)阳性对照组、HQGP 低剂量组(HQGP1, 0.5 mg/kg)、HQGP 中剂量组(HQGP2, 1.0 mg/kg)、HQGP 高剂量组(HQGP3, 5.0 mg/kg), 每组 10 只。

1.2.1.2 模型制备 雄性 BALB/c 小鼠适应性饲养 1 周。按照参考文献^[6]复制 CIA 模型。模型建立:在超净工作台内将胶原蛋白 II 型(牛)溶解于 0.1 mol/L 的醋酸中,在 4 °C 冰箱中过夜,然后与 1 g/L 的弗氏完全佐剂等体积混合,在冰浴下完全乳

化,制成弗氏完全佐剂与牛 II 型胶原混合乳剂。于小鼠尾根部皮内注射乳剂 0.1 mL。将注射当日记为第 0 天,初次致敏后第 21 d 再次注射加强免疫。以关节肿胀度评分标准评价模型复制是否成功。

1.2.2 给药方法 第 42 天给予腹腔注射药物治疗。给药 1 次/3 d,共给药 6 次。正常组(10 只)注射等体积生理盐水。

1.2.3 检测指标与方法

1.2.3.1 关节肿胀度评分 根据四肢关节的病变程度累积积分,计算出关节炎指数(Arthritis Index, AI)。标准为:关节无红肿,0 分;小趾关节稍肿,1 分;趾关节和足趾关节肿胀 2 分;踝关节以下足爪肿胀,3 分;踝关节在内全部足爪肿胀,4 分。4 只足爪均评分,每只小鼠最高 16 分。AI 值 ≥ 4 分造模成功。

1.2.3.2 HE 染色观察脾组织形态 第 57 天脱颈处死小鼠,取各组小鼠脾组织,立即放入 10% 甲醛固定液中,常规脱水,石蜡包埋,切片,HE 染色,加封盖玻片保存。光学显微镜下观察。

1.2.3.3 流式细胞仪检测小鼠外周血 IFN- γ 、IL-4 水平 第 57 天脱颈处死小鼠,取小鼠外周血。流式细胞术检测按照说明书进行。外周血淋巴细胞悬液中加入刺激 IFN- γ 、IL-4 分泌的刺激剂,在 CO₂ 培养箱中培育 4 h。荧光标记辅助性 T 细胞 CD3、CD4 抗原,固定细胞,荧光标记胞质内聚集的 IFN- γ 、IL-4,流式细胞仪检测。IFN- γ 、IL-4 分别特异性在 Th1、Th2 细胞分泌,因此以 IFN- γ 、IL-4 的量表示 Th1、Th2 的数量。

1.2.3.4 Western blot 法检测脾组织中 T-bet、GATA-3 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,BCA 法蛋白定量。取蛋白 30 μ g 上样,SDS-PAGE 电泳后,转移至 PVDF 膜上,室温下封闭 1 h,加入一抗,4 °C 冰箱封闭过夜;次日 TBST 脱洗 3 次,二抗孵育 1 h,再脱洗 3 次后,ECL 化学发光液显色,X 线片曝光,洗片。显影结果采用 Quantity One 软件计算灰度值,以目标蛋白与内参比值反应蛋白表达水平。

1.3 统计学方法 采用 SPSS 21.0 统计软件对数据进行统计处理。计数资料数据以均值 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,各组间比较采用单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 实验结果

2.1 CIA 小鼠关节肿胀度评分 CIA 模型小鼠于注射佐剂后第 10 天出现关节红肿反应,逐渐加重,

于第42 d评分均值达到模型标准(≥4)。小鼠同时表现出倦怠,食量减少,活动受到障碍。CIA小鼠AI值变化(图1)。

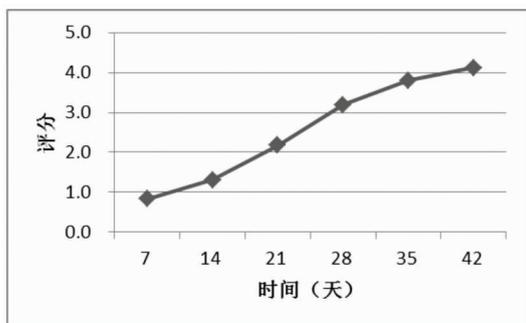


图1 CIA小鼠不同天数AI值

2.2 HQGP对CIA小鼠脾组织病理切片观察 常规HE染色病理切片显示(图2),与正常组比较,模型组脾小结变大,中央动脉周围淋巴细胞增生,炎性反应水肿导致组织疏松;与模型组比较,各治疗组改善了炎细胞浸润增生情况。

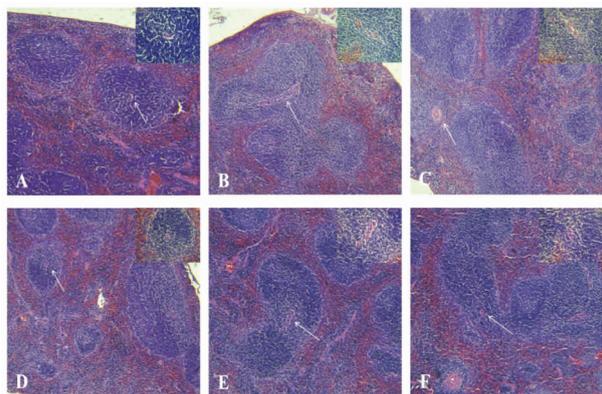


图2 各组小鼠的脾组织形态学观察 (HE染色,光镜下×40)

注:A正常组 B模型组 C氢化可的松组 D HQGP低剂量组 E HQGP中剂量组 F HQGP高剂量组,↑指示中央动脉。

2.3 HQGP对CIA小鼠外周血Th1、Th2比例的影响 实验结果如表1。与正常组比较,模型组小鼠外周血IFN-γ、IL-4比例升高,差异有统计学意义(P<0.05)。治疗后,与模型组比较,HC组和HQGP低、中剂量组IFN-γ、IL-4比例降低,差异有统计学意义(P<0.05)。同时,表1还表明,HQGP低、中剂量组对比模型组,Th1降低的幅度大于Th2降低的幅度。

2.4 HQGP对T-bet、GATA-3蛋白表达的影响 利用Western blot检测脾组织T-bet、GATA-3蛋白的表达。杂交结果如图3所示,数据见表2。与正常组比较,CIA模型组T-bet、GATA-3表达升高(P<0.05);与模型组比较,HC组和HQGP低、中剂量组T-bet、

GATA-3的表达降低(P<0.05),HQGP高剂量组T-bet、GATA-3表达降低,但差异无统计学意义。表2结果还显示,HQGP低、中剂量组分别与模型组比较,T-bet降低幅度比GATA-3降低幅度大。

表1 HQGP对CIA小鼠外周血Th1、Th2比例的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

| 组别 | Th1 比例 | Th2 比例 |
|--------|----------------------------|----------------------------|
| 正常组 | 0.306 ± 0.108 | 0.336 ± 0.061 |
| CIA模型组 | 0.614 ± 0.122 * | 0.452 ± 0.158 * |
| HC组 | 0.310 ± 0.058 [△] | 0.310 ± 0.054 [△] |
| HQGP1 | 0.358 ± 0.251 [△] | 0.326 ± 0.503 [△] |
| HQGP2 | 0.334 ± 0.173 [△] | 0.306 ± 0.113 [△] |
| HQGP3 | 0.434 ± 0.064 | 0.374 ± 0.862 [△] |

注:与正常组比较,*P<0.05;与模型组比较,[△]P<0.05。

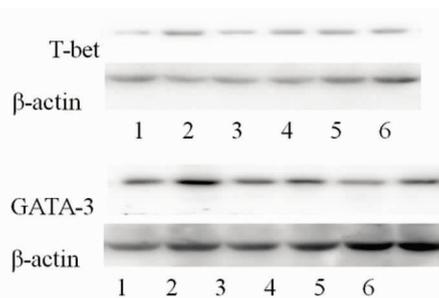


图3 CIA小鼠脾组织T-bet、GATA-3蛋白Western blot

注:1-6泳道:正常组、模型组、HC组、HQGP低剂量组、HQGP中剂量组、HQGP高剂量组。

表2 CIA小鼠脾组织中T-bet与GATA-3蛋白的表达($\bar{x} \pm s, n = 10$)

| 组别 | T-bet/β-actin | GATA-3/β-actin |
|--------|--------------------------|---------------------------|
| 正常组 | 0.46 ± 0.11 | 0.609 ± 0.01 |
| CIA模型组 | 1.53 ± 0.62 * | 0.803 ± 0.08 * |
| HC组 | 0.63 ± 0.11 [△] | 0.557 ± 0.17 [△] |
| HQGP1 | 0.51 ± 0.03 [△] | 0.672 ± 0.12 [△] |
| HQGP2 | 0.81 ± 0.18 [△] | 0.687 ± 0.11 [△] |
| HQGP3 | 1.17 ± 0.40 | 0.740 ± 0.20 |

注:与正常组比较,*P<0.05;与模型组比较,[△]P<0.05。

3 讨论

目前,RA的病因、发病机制并不是十分清楚,为了更好地研究RA的病因、发病机制及其治疗方法,国内外众多学者成功建立了许多与人类RA类似的动物模型。如AA模型、CIA模型,其中CIA模型是类风湿性关节炎常用的经典动物模型。在建立模型的过程中,动物品系、注射部位、手法、注射剂量以及胶原是否充分混匀、乳化是否完全,都会影响到CIA造模的成功率。本研究采用的是近交系BALB/c雄性小鼠,选取小鼠尾根部皮内注射,进行2次免疫,两次免疫时间间隔21 d,根据对CIA小鼠的关节炎指数评分、关节肿胀程度的评测,结果显示,CIA小

鼠病变症状明显。

随着对 RA 发病机制的深入研究,不断出现越来越多的治疗类风湿性关节炎的药物,但始终没有比较让人满意的治疗方法,中药类治疗药物作为天然药物,具有整体调理、减轻不良反应的优势。其有效成分在治疗 RA 中表现出一定的优势。有研究显示,五藤汤辨证加减疗法对于类风湿性关节炎的治疗具有显著的临床疗效,且治疗灵活性强,不良反应少^[7]。由阳和汤化裁而来的补肾通督胶囊可明显改善肾虚寒凝型 RA 患者 Th1/Th2 的比例失衡^[8]。益气活血解毒方能够通过调控 RA 外周血 T 淋巴细胞的增殖和分化,维持体内自身免疫应答的稳态,抑制炎症反应的发生,缓解因免疫炎症反应造成的关节损伤,这可能是该方治疗 RA 的关键作用机制^[9]。姜黄素衍生物 FM0807 对佐剂性类风湿性关节炎大鼠有较好疗效^[10]。薏苡颗粒对胶原诱导性小鼠关节炎具有防治作用^[11]。健脾化湿通络中药新风胶囊可改善 AA 大鼠踝关节病理组织学损伤程度^[12]。风湿宁胶囊可调节 CIA 大鼠炎症反应因子的分泌,恢复 Th1/Th2 的平衡^[13]。黄芩茎叶总黄酮能够在一定程度上减轻 CIA 小鼠的炎症反应症状,调节 Th1/Th2 细胞平衡^[14]。

黄芪,属补气类中药,其在免疫调节、抗肿瘤、抗病毒、延缓衰老等方面都表现出活性,具有调节免疫等诸多药理作用^[15]。氢化可的松是临床疗效确切的常用药物,具有抗炎和免疫抑制作用,所以选为阳性对照药。在本文中,我们成功复制了小鼠 CIA 模型,研究 HQGP 发挥免疫抑制作用的可能途径及其效果。

免疫功能紊乱的研究一直占据第一位,被认为是 RA 发生的主要发病机制之一,T 细胞介导的自身免疫应答反应在 RA 的发病机制中起到重要作用。

Th1 和 Th2 细胞均来自初始 T 细胞(Naive T cell, Tn), Tn 在不同的细胞因子微环境下通过激活 Janus 激酶/信号转导子与转录激活子(Janus Kinase/Signal Transducer and Activator of Transcription, JAK/STAT)信号转导通路,分别活化下游各自的特异性转录调节因子 T-bet(T-box Expressed in T cells)和 GATA-3(GATA-binding Protein-3),继而诱导 Tn 分化为 Th1、Th2 亚群。T-bet 和 GATA-3 分别作为特异性调控 Th1 和 Th2 分化的转录因子彼此之间相互调节。Th1 细胞主要分泌 IFN- γ 、IL-2、TNF- α 等细胞因子,其中 IFN- γ 是 Th1 细胞特征性细胞因子,具有双向免疫调节作用。Th2 主要产生 IL-4、IL-5、IL-

6、IL-10 等细胞因子,其中 IL-4 是 Th2 细胞分泌的特征抗炎性反应细胞因子,它可抑制滑膜巨噬细胞和 Th1、Th17 细胞合成炎症反应细胞因子及抑制血管新生,还具有保护软骨作用^[16]。

很多研究表明,在 RA 患者中 Th1 明显增多并占优势,促炎性反应 Th1 细胞及其分泌的 IFN- γ 与抗炎性反应 Th2 细胞及其分泌的 IL-4 之间的失衡在 RA 发病机制中具有重要作用^[17]。在以 Th1 反应为主的炎症反应晚期往往会有逐渐增强的 Th2 反应出现,其作用是阻止 Th1 反应介导损伤。刘喜德等实验结果提示淋巴细胞表达 Th1 表型可能是 CIA 起始疾病的关键步骤,在 CIA 的进展期,是以 IFN- γ 水平升高的 Th1 类细胞增多为主,而 IFN- γ 表达升高可能与疾病的严重性相关,说明 CIA 大鼠外周血存在 Th1/Th2 失衡^[18]。郭明等应用流式细胞术从细胞水平也证实了 Th1 细胞和 Th2 细胞参与 RA 整个病程的演变,不同时期 CIA 小鼠体内二者呈现不同的变化规律,发病早期 Th2 细胞并不能抑制增多的 Th1 细胞,不足以抵制 CIA 恶化,至病情进展到中期和晚期 Th2 细胞开始有所升高抑制 CIA 病情发展,使 RA 症状趋于稳定^[19]。

任舒婷等通过检测 RA 患者外周血及关节液中 IL-4、IL-6、IFN- γ 等表达情况,结果发现 RA 患者外周血和关节液中 IL-4 和 IFN- γ 水平均比正常对照组高,Th1/Th2 的失衡引起 RA 炎症反应性损伤,其诱导的免疫性炎症反应是主要表现^[20]。

实验结果显示,CIA 组小鼠的脾细胞中 T-bet、GATA-3 表达明显增高,与正常组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$);相应的 CIA 组外周血 IFN- γ 、IL-4 的比例也升高,与正常组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),即外周血中 Th1、Th2 的比例增大,与特异性转录因子呈现出相同的变化趋势。T-bet 表达的增高,促使 Tn 向 Th1 转化,外周血中 Th1 比例增高;同理 GATA-3 表达的增高,部分 Tn 也向 Th2 转化,外周血中 Th2 比例也增高。但 T-bet 与 Th1 的增高幅度均大于 GATA-3 与 Th2 的增高。说明造模后 CIA 小鼠 Th1 分泌炎症反应细胞因子占优势,机体抵抗炎症反应发生自然也同时提高 Th2 分泌抗炎因子,但增加的幅度远不及 Th1,致使机体患病,表现 CIA 病症。

本实验中 CIA 小鼠经 HQGP 治疗后,脾细胞中 T-bet、GATA-3 的表达降低,外周血中 Th1、Th2 的比例也相应降低,与模型组比较均有统计学意义($P < 0.05$)。脾组织中转录因子表达的变化同样与外周

血中 Th1、Th2 的变化一致。与模型组比较发现, HQGP 治疗组 T-bet 与 Th1 的降低幅度均大于 GATA-3 与 Th2 的降低, 也说明 HQGP 的治疗抑制了 Th1 的分化, 同时其分泌的炎性反应细胞因子也减少。Th2 没有 Th1 降低的幅度大, 使机体处于抗炎相对优势, 症状好转。本实验是在第 57 天取材, 即药物治疗了 16 d, 治疗时间短, Th2 还未完全占有优势, 因此在与模型组比较时, 仍然表现出降低。

本文表明, HQGP 对于 CIA 小鼠的治疗作用可能是通过不同程度的降低脾组织中 T-bet、GATA-3 的表达实现的, 这样初始 Tn 细胞分化为 Th1、Th2 均减少, 但 Th1、Th2 降低的幅度明显不同, 抗炎细胞因子相对占优势, 但还未完全纠正 Th1、Th2 细胞平衡紊乱。是否继续延长 HQGP 的治疗时间, HQGP 的免疫调节作用是否还与其他相关转录因子和通路具有相关性还有待深入研究。

参考文献

- [1] 栗占国, 张奉春, 鲍春德, 等. 类风湿关节炎[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2009: 112-114.
- [2] 冯前进, 薛慧清, 杨向竹, 等. 一种黄芪糖蛋白及其制备方法和用途[P]. 中国专利: 200910089580. 5.
- [3] 杨向竹, 薛慧清, 冯前进, 等. 黄芪糖蛋白对 T 淋巴细胞增殖活性的影响[J]. 上海中医药大学学报, 2009, 23(5): 66-68.
- [4] 杨向竹, 薛慧清, 冯前进, 等. 黄芪糖蛋白对小鼠淋巴细胞体外活化的抑制作用[J]. 山西中医, 2009, 25(8): 45-46.
- [5] 赵俊云, 刘亚明, 冯前进, 等. 黄芪糖蛋白对佐剂性关节炎小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, 44(5): 78-80.
- [6] Welles WL, Battisto JR. Suppression of adjuvant arthritis by antibodies specific for collagen type II[J]. Immunol Commun, 1981, 10(8): 673-685.
- [7] 岳双林. 五藤汤加减对类风湿性关节炎的治疗效果研究[J]. 内

蒙古中医药, 2016, 35(3): 3.

- [8] 郭丽萍, 周璐, 李树倩, 等. 熊去氧胆酸单药或联合免疫抑制剂治疗原发性胆汁性肝硬化-自身免疫性肝炎重叠综合征的疗效分析[J]. 中华消化杂志, 2016, 36(3): 155-160.
- [9] 柴立民, 董玢, 委利霞, 等. 益气活血解毒方对胶原诱导性关节炎大鼠 T 淋巴细胞增殖和分化的影响[J]. 中药药理与临床, 2014, 30(5): 118-121.
- [10] 王霆钧, 邱扬凌, 蔡嘉莉, 等. 姜黄素衍生物 FM0807 对佐剂性类风湿性关节炎模型大鼠疗效观察[J]. 中国现代医生, 2016, 54(11): 20-22.
- [11] 于明宇. 薏苡颗粒通过 Th1/Th17 细胞介导免疫抑制效应作用机制研究[D]. 昆明: 云南中医学院, 2015.
- [12] 姜辉, 刘健, 高家荣, 等. 新风胶囊上调佐剂性关节炎大鼠滑膜组织 Bax 和 caspase-3 表达并下调 Bcl-2 表达[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2016, 32(4): 457-461.
- [13] 马艳苗. 风湿宁胶囊对胶原诱导性关节炎大鼠的治疗作用及机制研究[D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2013.
- [14] 封桂英, 宋鸿儒, 郭明, 等. 卡介苗含量对成功建立 C57BL/6 小鼠 CIA 模型的影响[J]. 中国免疫学杂志, 2014, 30(3): 378-382.
- [15] 尹鑫鑫, 黄荣. 黄芪的免疫药理作用研究进展[J]. 黑龙江科技信息, 2013, 16(36): 8.
- [16] Sandoghchian SS, Zhang Y, Baidoo SE, et al. IL-4 can inhibit IL-17 production in collagen induced arthritis[J]. Iran J Immunol, 2011, 8(4): 209-217.
- [17] Boissier MC. Cell and cytokine imbalances in rheumatoid synovitis[J]. Joint Bone Spine, 2011, 78(3): 230-234.
- [18] 刘喜德, 刘风云, 陈滢, 等. 温化薏苡方对 CIA 大鼠外周血 Th1/Th2 细胞平衡的影响[J]. 中国中医药科技, 2011, 18(1): 10-12.
- [19] 郭明, 封桂英, 郭亚春, 等. Th1 型细胞因子在胶原蛋白诱导性关节炎小鼠血清中的动态变化[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2014, 30(3): 250-253.
- [20] 任舒婷, 李玉生. Th1/Th2 失衡对于类风湿性关节炎炎症损伤的临床意义[J]. 标记免疫分析与临床, 2015, 22(9): 864-866.

(2016-07-07 收稿 责任编辑: 王明)

世界中医药大会第三届夏季峰会暨大健康产业博览会

由世界中医药学会联合会主办的“世界中医药大会”是全球中医药领域规模大、参与广、层次高的学术盛会, 至今已经成功举办十三届。为进一步扩大世界中医药大会的学术影响力, 世界中联特决定在境内召开世界中医药大会夏季峰会, 至今已经成功主办两届。世界中医药大会第三届夏季峰会, 将于 2017 年 6 月 10—12 日在安徽合肥召开, 本次大会主题为“聚焦中医药大健康, 助力‘一带一路’发展”, 现诚挚邀请来自世界各国(地区)的中医药相关专家、学者与会, 交流中医药理论研究、临床经验、科研成果以及新技术、新疗法, 聚焦大健康产业发展。大会将制作《世界中医药大会第三届

夏季峰会特刊》, 收录具备一定资质的机构和个人的相关宣传资料, 将赠与参会人员及我会 67 个国家的 251 个会员团体、各国驻华使馆、我国驻外使馆及有关国际组织和相关机构收藏。大会将制作大会论文集, 论文截稿日期 2017 年 5 月 20 日, 欢迎大家积极投稿。

报名联系人: 邹建华、关涛、焦云洞、刘香玉、刘晓婷、陈安
电话: 010-58650042/0043, 010-58650242, 传真: 010-58650043

报名网站: <http://wccmss2017.medmeeting.org/cn>
联系邮箱: wfcmsxshb@vip.163.com