

骨髓间充质干细胞移植对胶原诱导性关节炎大鼠血清细胞因子的影响

吴海洋

(商丘市中心医院, 河南 商丘 476000)

摘要 目的:观察骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs)移植对胶原诱导性关节炎(collagen induced arthritis, CIA)大鼠血清细胞因子的影响。方法:选取清洁级雌性 Wistar 大鼠 60 只。用颈椎脱臼断颈法处死 1 只大鼠,取股骨和胫骨骨髓,分离、培养 BMSCs。其余 59 只大鼠采用随机数字表分为正常对照组(20 只)、模型组(20 只)、细胞移植组(19 只)。模型组和细胞移植组每只大鼠在尾根部、背部及左后足跖部皮下注射含牛Ⅱ型胶原的乳化液共 0.5 mL,正常对照组注射等量生理盐水。于第 1 次注射后第 14 天再注射 1 次。于第 2 次注射后的第 15 天,各组分别随机处死 2 只大鼠,观察左侧踝关节组织形态,判断造模是否成功。于第 2 次注射的当天,细胞移植组大鼠通过尾静脉注射 BMSCs 悬液,正常对照组和模型组注射等量生理盐水。干预 30 d 后,采用关节炎指数(arthritis index, AI)评价各组大鼠关节炎严重程度;采用 ELISA 法检测大鼠血清中血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、基质金属蛋白酶 3(matrix metalloproteinase 3, MMP-3)、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor, TNF- α)、白细胞介素 17(interleukin-17, IL-17)水平。结果:①模型鉴定结果。造模完成后的第 15 天,正常对照组大鼠踝关节结构完整,组织切片未见明显炎性细胞增殖;模型组和细胞移植组大鼠踝关节滑膜增生,组织切片可见大量增殖的炎性细胞,提示造模成功。②关节炎严重程度评价结果。干预 30 d 后,正常对照组、模型组和细胞移植组 AI 值分别为 (1.15 ± 0.32) 分、 (8.25 ± 3.18) 分和 (5.07 ± 1.29) 分,3 组间的总体差异有统计学意义($F=2.823, P=0.005$)。模型组和细胞移植组 AI 值均高于正常对照组($P=0.017, P=0.023$),细胞移植组 AI 值低于模型组($P=0.042$)。③血清细胞因子水平检测结果。干预 30 d 后,3 组间血清 VEGF、MMP-3、TNF- α 和 IL-17 水平总体比较,差异均有统计学意义[$(10.45 \pm 3.44) \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$, $(22.43 \pm 6.49) \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$, $(17.22 \pm 5.20) \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$, $F=2.059, P=0.043$; $(5.39 \pm 1.27) \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$, $(12.49 \pm 3.22) \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$, $(7.30 \pm 2.11) \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$, $F=2.823, P=0.005$; $(22.34 \pm 8.50) \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$, $(44.39 \pm 12.29) \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$, $(35.55 \pm 9.40) \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$, $F=1.983, P=0.048$; $(5.23 \pm 1.28) \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$, $(11.26 \pm 3.07) \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$, $(8.34 \pm 4.30) \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$, $F=2.557, P=0.015$]。模型组和细胞移植组血清 VEGF、MMP-3、TNF- α 和 IL-17 水平均高于正常对照组(模型组和正常对照组比较: $P=0.022, P=0.040, P=0.033, P=0.016$;细胞移植组和正常对照组比较: $P=0.019, P=0.031, P=0.022, P=0.047$);细胞移植组血清 VEGF、MMP-3、TNF- α 和 IL-17 水平低于模型组($P=0.044, P=0.012, P=0.033, P=0.048$)。结论:BMSCs 移植可减轻 CIA 大鼠关节炎严重程度,降低 CIA 大鼠血清中 VEGF、MMP-3、TNF- α 和 IL-17 水平。

关键词 关节炎;类风湿;间质干细胞移植;血管内皮生长因子类;基质金属蛋白酶 3;肿瘤坏死因子 α ;白细胞介素 17;动物实验;大鼠

Effects of bone marrow mesenchymal stem cells transplantation on serum cytokines in rats with collagen-induced arthritis

WU Haiyang

Shangqiu Central Hospital, Shangqiu 476000, Henan, China

ABSTRACT Objective: To observe the effects of bone marrow mesenchymal stem cells (BMSCs) transplantation on serum cytokines in rats with collagen-induced arthritis (CIA). **Methods:** Sixty clean-grade female Wistar rats were selected. One rat was randomly selected out from the 60 rats and was executed by using cervical dislocation method, and its bone marrow were fetched out from femur and tibia by separating and culturing BMSCs. The other 59 rats were randomly divided into normal control group (20), model group (20) and BMSCs transplantation group (19) by using random digits table. The rats in model group and BMSCs transplantation group were subcutaneously injected with emulsified liquid containing bovine type II collagen with dose of 0.5 mL into their tail roots, backs and left posterior plantar areas, while the rats in normal control group were subcutaneously injected with the same dose of normal saline (NS) in the same places. The second subcutaneous injection was performed on rats at the 14th day after the first injection. At 15th day after the second injection, 2 rats

were randomly selected out from each group and were executed, and their left ankle - joints were fetched out and the tissue morphology of left ankle - joints was observed to determine whether the models were built successfully. On the day of the second injection, the rats in BMSCs transplantation group were injected with BMSCs suspension into caudal vein, while the rats in normal control group and model group were injected with the same dose of NS into caudal vein. After 30 - day intervention, the severity of arthritis was evaluated by using arthritis index (AI), and the serum levels of vascular endothelial growth factor (VEGF), matrix metalloproteinase 3 (MMP - 3), tumor necrosis factor (TNF - α) and interleukin - 17 (IL - 17) were measured by using ELISA method. **Results:** At the 15th day after the modeling, the structure of ankle - joint was intact and no obvious proliferative inflammatory cells were found in tissue sections in rats of normal control group, while synovial hyperplasia was found in ankle joint and a large number of proliferative inflammatory cells were found in tissue sections in rats of model group and BMSCs transplantation group, which suggested that the models were successfully built. After 30 - day intervention, the AI values of normal control group, model group and BMSCs transplantation group were 1.15 ± 0.32 , 8.25 ± 3.18 and 5.07 ± 1.29 points respectively, and there was statistical difference in AI values between the 3 groups in general ($F = 2.823$, $P = 0.005$). The AI values were higher in model group and BMSCs transplantation group compared to normal control group, and were lower in BMSCs transplantation group compared to model group ($P = 0.017$, $P = 0.023$; $P = 0.042$). After 30 - day intervention, there was statistical difference in serum levels of VEGF, MMP - 3, TNF - α and IL - 17 between the 3 groups in general (10.45 ± 3.44 , 22.43 ± 6.49 , 17.22 ± 5.20 pg/mL, $F = 2.059$, $P = 0.043$; 5.39 ± 1.27 , 12.49 ± 3.22 , 7.30 ± 2.11 pg/mL, $F = 2.823$, $P = 0.005$; 22.34 ± 8.50 , 44.39 ± 12.29 , 35.55 ± 9.40 pg/mL, $F = 1.983$, $P = 0.048$; 5.23 ± 1.28 , 11.26 ± 3.07 , 8.34 ± 4.30 pg/mL, $F = 2.557$, $P = 0.015$). The serum levels of VEGF, MMP - 3, TNF - α and IL - 17 were higher in model group and BMSCs transplantation group compared to normal control group, and were lower in BMSCs transplantation group compared to model group ($P = 0.022$, $P = 0.040$, $P = 0.033$, $P = 0.016$; $P = 0.019$, $P = 0.031$, $P = 0.022$, $P = 0.047$; $P = 0.044$, $P = 0.012$, $P = 0.033$, $P = 0.048$). **Conclusion:** BMSCs transplantation can reduce the severity of arthritis and decrease the serum levels of VEGF, MMP - 3, TNF - α and IL - 17 in rats with CIA.

Keywords arthritis; rheumatoid; mesenchymal stem cell transplantation; vascular endothelial growth factors; matrix metalloproteinase 3; tumor necrosis factor - alpha; interleukin - 17; animal experimentation; rats

类风湿关节炎 (rheumatoid arthritis, RA) 是一种自身免疫性疾病, 发病机制尚不十分明确, 可能与患者职业、营养、心理及社会环境、细菌和病毒感染等因素有关^[1]。RA 以对称性、慢性多关节滑膜炎和关节外病变为主要临床表现, 可严重影响患者的生活质量。我国 RA 的发病率为 0.42%, 给社会带来很大负担^[2]。RA 发病机制复杂, 其中免疫性因素占主导作用^[3]。近年来, 有关研究^[4-5]发现骨髓间充质干细胞 (bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs) 有调节免疫紊乱和维持免疫平衡的作用, 但其确切作用机制尚不清楚。这些研究结果为 RA 的治疗提供了新的思路。胶原诱导性关节炎 (collagen induced arthritis, CIA) 大鼠模型, 是研究 RA 最常用的动物模型^[6]。为探讨 BMSCs 移植治疗 RA 的作用机制, 为 RA 的治疗探索新的方法, 笔者对 BMSCs 移植对 CIA 大鼠血清细胞因子的影响进行了观察, 现报告如下。

1 材料与仪器

1.1 实验动物 清洁级雌性 Wistar 大鼠 60 只, 体重 160 ~ 180 g, 日龄 40 ~ 50 d。购于郑州大学实验动物中心, 实验动物合格证号: SCXK (豫) 2010 - 0002。

饲养条件: 温度 18 ~ 23 °C, 湿度 45% ~ 55%。动物饲养于商丘医学高等专科学校动物实验室。实验方案通过医学动物实验伦理委员会审查批准。

1.2 主要试剂和仪器 胎牛血清 (美国 Gibco 公司), 血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF)、基质金属蛋白酶 3 (matrix metalloproteinase 3, MMP - 3)、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor, TNF - α)、白细胞介素 17 (interleukin - 17, IL - 17) 试剂盒 (上海晶抗生物工程有限公司), Bm - MSCs 流式细胞检测所用抗体 (北京鼎国昌盛生物技术有限责任公司), 完全弗氏佐剂、牛 II 型胶原 (美国 BD 公司)。超净工作台 (苏州净化设备有限公司), 精密电子天平 (美国 Adventurer 公司), 紫外分光光度计 (上海第三分析仪器厂), iChem - 530 全自动生化分析仪 (深圳市库贝尔生物科技股份有限公司)。

2 方法

2.1 BMSCs 分离、培养和鉴定方法 用颈椎脱臼断颈法处死 1 只大鼠, 在超净工作台上, 取出股骨和胫骨, 剔除附着的肌肉软组织后, 打开骨髓腔。用 DMEM 液 (含青霉素、链霉素及 10% 胎牛血清) 冲洗

骨髓腔,收集骨髓细胞悬浮液,离心 10 min ($2000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$, 离心半径 10 cm)。吸取中层云雾状细胞层,吹打制成细胞悬液,计数并以 3×10^5 个 $\cdot \text{cm}^{-2}$ 的密度接种于培养瓶中,置于温度为 37°C 、二氧化碳浓度为 5% 的培养箱中。48 h 后第一次换液,去除未贴壁和死亡的细胞,以后每 72 h 换液一次。观察细胞形态,待贴壁细胞融合成单层时,用胰酶按 1:2 的比例消化传代。传至第 3 代,制备成细胞悬液,与异硫氰酸荧光素标记的 CD29、CD44、CD105 和 CD45 室温避光反应 30 min, PBS 缓冲液冲洗 3 次,流式细胞仪检测细胞表型。

2.2 造模及模型鉴定方法 适应性饲养 1 周后,采用随机数字表将 59 只大鼠随机分为正常对照组(20 只)、模型组(20 只)、细胞移植组(19 只)。牛 II 型胶原 $5 \mu\text{g}$ 与 2.5 mL 完全氟氏佐剂完全乳化,制成乳化液。模型组、细胞移植组,每只大鼠在尾根部、背部及左后足跖部皮下注射上述含牛 II 型胶原的乳化液共 0.5 mL,正常对照组相同部位注射等量生理盐水。第 1 次注射后的第 14 天再注射 1 次。于第 2 次注射后的第 15 天,各组分别随机选取 2 只大鼠,处死后取出左侧踝关节,切片、苏木素伊红染色后光镜下观察,判断造模是否成功。

2.3 干预方法 收集第 3 代的 BMSCs,胰蛋白酶进行消化后,以 DMEM 液冲洗 3 次,计数并调整密度至 1×10^7 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$ 。于第 2 次注射的当天,细胞移植组大鼠麻醉后,固定在超净工作台上,待尾静脉充分充盈后,通过尾静脉注射 BMSCs 悬液(每只大鼠移植细胞数为 1×10^7 个 $\cdot \text{kg}^{-1}$);正常对照组和模型组以同样的方法经尾静脉注射等容量生理盐水。

2.4 评价方法

2.4.1 关节炎严重程度评价 干预 30 d 后,采用关节炎指数(arthritis index, AI)^[7]评价各组大鼠关节炎严重程度:无红肿为 0 分,足或踝关节轻度红肿为 1 分,足趾至踝关节轻度红肿为 2 分,足趾至踝关节中度红肿为 3 分,关节畸形或整个腿红肿为 4 分。每爪最高 4 分,总分最高 16 分,分数越高关节炎越严重。

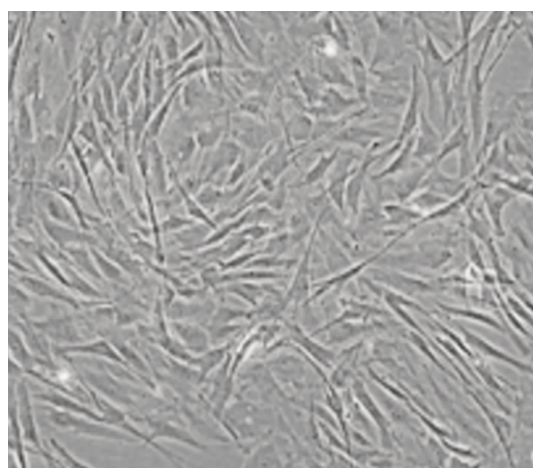
2.4.2 血清细胞因子水平检测 干预 30 d 后,采集大鼠眼眶血,分离血清,采用 ELISA 法检测各组大鼠血清中 VEGF、MMP-3、TNF- α 和 IL-17 水平,具体操作按照 ELISA 试剂盒说明书进行。

2.5 数据统计方法 采用 SPSS18.0 统计软件处理数据。3 组大鼠关节炎指数值及血清 VEGF、MMP-3、TNF- α 和 IL-17 水平的总体比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD- t 检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

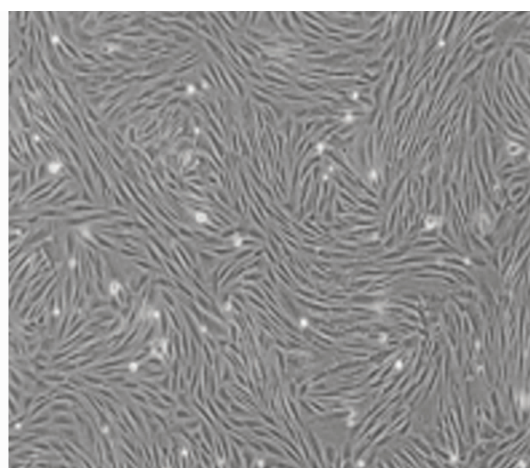
3 结 果

3.1 BMSCs 培养与鉴定结果 传代后的培养细胞呈旋窝状或放射状贴壁生长,细胞多呈星形、梭形或三角状[图 1(1)]。培养 3 代后,细胞贴壁加快、形态均一,呈旋窝状或单层放射状生长[图 1(2)]。流式细胞仪检测结果显示培养细胞表面抗原 CD29、CD44 和 CD105 阳性,CD45 阴性,符合 BMSCs 表型特征(图 2)。

3.2 模型鉴定结果 造模完成后的第 15 天,正常对照组大鼠踝关节结构完整,组织切片未见明显炎性细胞增殖;模型组和细胞移植组大鼠踝关节滑膜增生,有大量增殖的炎性细胞(图 3)。



(1)原代细胞



(2)第3代细胞

图 1 大鼠骨髓间充质干细胞培养结果 ($\times 100$)

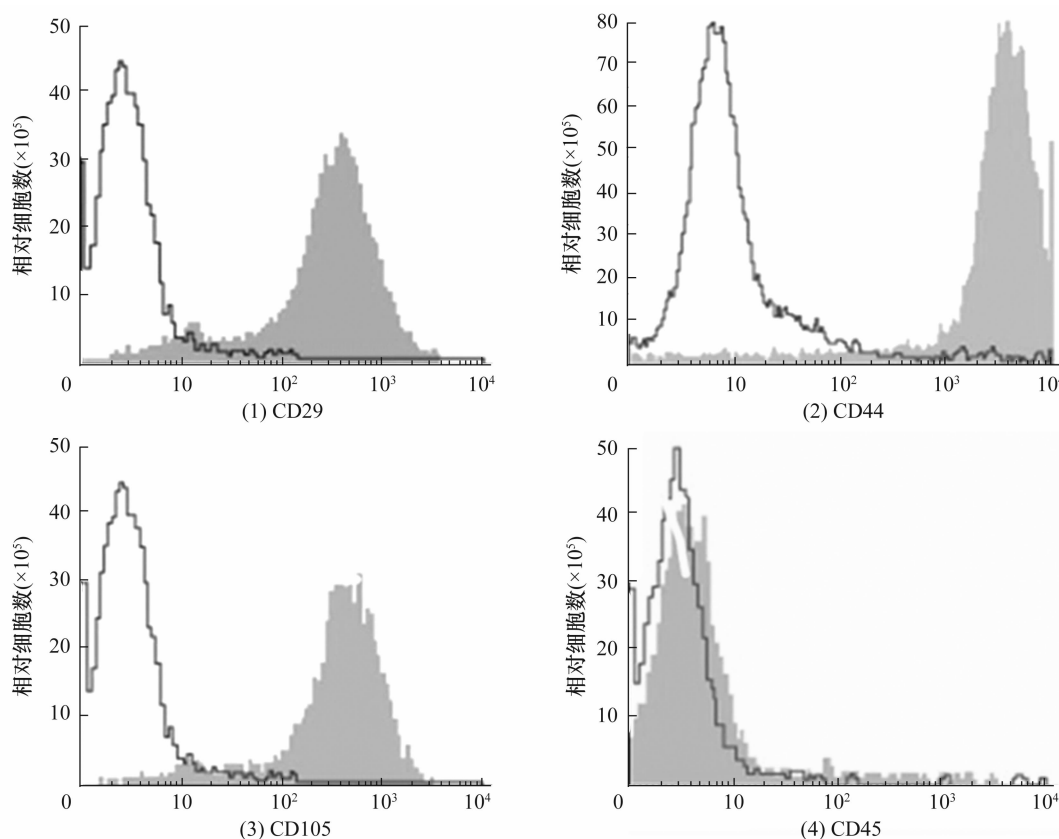


图2 第3代大鼠骨髓间充质干细胞流式细胞仪检测结果

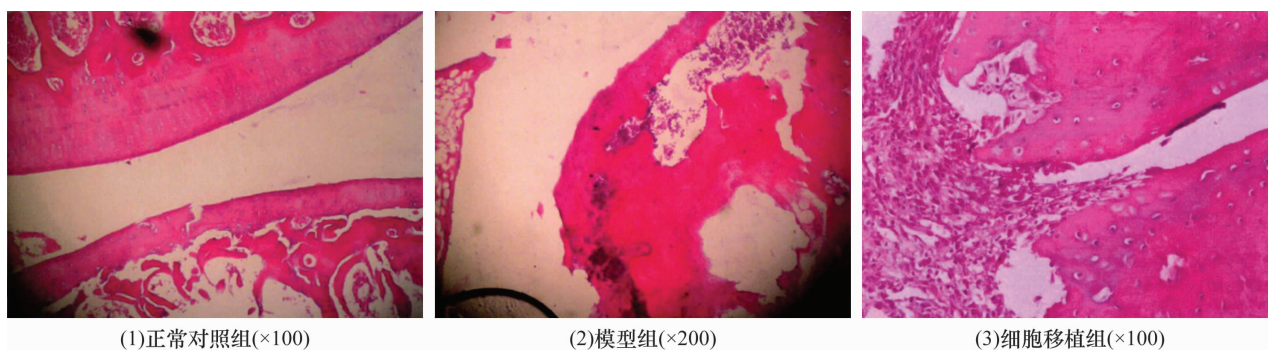


图3 造模完成后第15天3组大鼠踝关节组织形态图片

3.3 关节炎严重程度评价结果 干预 30 d 后,正常对照组、模型组和细胞移植组 AI 值分别为 (1.15 ± 0.32) 分、 (8.25 ± 3.18) 分和 (5.07 ± 1.29) 分,3 组间的总体差异有统计学意义 ($F = 2.823, P = 0.005$)。模型组和细胞移植组 AI 值均高于正常对照组 ($P = 0.017, P = 0.023$),细胞移植组 AI 值低于模型组 ($P = 0.042$)。

3.4 血清细胞因子水平检测结果 干预 30 d 后,3 组间血清 VEGF、MMP-3、TNF- α 和 IL-17 水平总体比较,差异均有统计学意义。模型组和细胞移植组血清 VEGF、MMP-3、TNF- α 和 IL-17 水平均高于正常对照组(模型组和正常对照组比较: $P = 0.022$,

$P = 0.040, P = 0.033, P = 0.016$;细胞移植组和正常对照组比较: $P = 0.019, P = 0.031, P = 0.022, P = 0.047$),细胞移植组血清 VEGF、MMP-3、TNF- α 和 IL-17 水平均低于模型组 ($P = 0.044, P = 0.012, P = 0.033, P = 0.048$)。见表 1。

4 讨论

作为一种自身免疫性疾病,RA 的发病机制与多种源自滑膜组织和免疫系统的细胞、细胞因子有关。RA 最早出现的病理改变是滑膜炎,表现为滑膜充血、水肿、纤维组织增生;滑膜炎反复发作,软骨和骨组织受到破坏,造成关节功能异常,最终可致残^[8-10]。自身抗原刺激、炎症因子网络的持续激活是 RA 患者关

表 1 3 组大鼠血清细胞因子水平检测结果

组别	样本量(只)	血清细胞因子水平($\bar{x} \pm s$, pg · mL ⁻¹)			
		VEGF	MMP-3	TNF- α	IL-17
正常对照组	18	10.45 ± 3.44	5.39 ± 1.27	22.34 ± 8.50	5.23 ± 1.28
模型组	18	22.43 ± 6.49	12.49 ± 3.22	44.39 ± 12.29	11.26 ± 3.07
细胞移植组	17	17.22 ± 5.20	7.30 ± 2.11	35.55 ± 9.40	8.34 ± 4.30
F 值		2.059	2.823	1.983	2.557
P 值		0.043	0.005	0.048	0.015

VEGF:血管内皮生长因子;MMP-3:基质金属蛋白酶 3;TNF- α :肿瘤坏死因子 α ;IL-17:白细胞介素 17

节慢性炎症持续存在的原因之一^[11]。随着免疫学和分子生物学的不断发展,RA 与自身免疫的关系逐渐引起学者的重视^[12]。

细胞因子是一类由机体多种细胞合成和分泌的多肽类因子,在调节细胞分化、增殖和迁移过程中具有重要作用。细胞因子在 RA 的发病机制和病情进展中具有非常重要的作用。在 RA 病情发展过程中伴随着血管的新生,而血管新生依赖于多个血管生成因子的参与,其中 VEGF 的表达尤为主要^[13]。作为降解细胞外基质的蛋白酶之一,MMP 在胚胎发育、组织重塑,以及炎症反应、动脉粥样硬化和恶性肿瘤浸润等病理过程中扮演重要角色。在 RA 患者的关节滑膜中 MMP-3 表达水平上升,细胞外基质降解加快,可加剧骨质及胶原的破坏^[14]。在 RA 患者血清和关节液中可检测出 IL-1、IL-6、TNF- α 、IL-17 等炎症因子^[15-16]。在长期持续的炎症刺激下,大多数 RA 患者在确诊一年内会出现骨侵蚀,而炎症因子是骨侵蚀的强力调节剂^[17]。TNF- α 是重要的炎症因子之一,具有促进其他炎症因子生成的作用,其表达水平与 RA 关系密切,可以促进滑膜微血管的新生和滑膜成纤维细胞的增殖,从而形成 RA 特征性血管翳^[18]。IL-17 也可促进滑膜血管翳的形成^[19]。

传统治疗 RA 的免疫调节剂和免疫抑制剂(如环磷酰胺、糖皮质激素和来氟米特等)只能部分控制病情,且长期用药存在并发严重感染、血管疾病和恶性肿瘤的风险^[20-21]。近年来,BMSCs 的免疫调节和对损伤组织的修复作用受到广泛关注,其具有抑制 T 淋巴细胞增殖和炎症介质产生的作用,这一特性使其具备治疗自身免疫性疾病的潜质^[22-23]。目前,国际细胞治疗协会关于间充质干细胞的定义是,除具有塑料板贴壁、三系分化生长特性外,必须表达 CD29、CD44 和 CD105,不表达 CD45^[24]。本研究中分离、培养的细胞表型特征与之相符。CIA 大鼠模型是 RA 研究常用的动物模型,其病理表现与 RA 有很多相似之处,

如持续性关节炎症、边缘性骨侵蚀、对称性关节累及、外周关节炎及关节滑膜炎细胞浸润、滑膜增生和存在抗胶原抗体等。尹纪伟等^[25]报道,BMSCs 可抑制 CIA 大鼠的滑膜增生,降低血清 VEGF、TNF- α 和 IL-17 水平。刘贵艳等^[26]报道,BMSCs 移植可降低 CIA 大鼠关节炎严重程度,并认为可能与 MMP-3 和 IL-22 水平降低有关。本研究结果表明,BMSCs 移植可减轻 CIA 大鼠关节炎严重程度,降低 CIA 大鼠血清中 VEGF、MMP-3、TNF- α 和 IL-17 水平。

5 参考文献

- [1] KOHNO Y, MIZUNO M, OZEKI N, et al. Yields and chondrogenic potential of primary synovial mesenchymal stem cells are comparable between rheumatoid arthritis and osteoarthritis patients[J]. Stem Cell Res Ther, 2017, 8(1): 115.
- [2] 曾小峰, 朱松林, 谭爱春, 等. 我国类风湿关节炎疾病负担和生存质量研究的系统评价[J]. 中国循证医学杂志, 2013, 13(3): 300-307.
- [3] ANSBORO S, ROELOFS A J, DE BARI C. Mesenchymal stem cells for the management of rheumatoid arthritis: immune modulation, repair or both? [J]. Curr Opin Rheumatol, 2017, 29(2): 201-207.
- [4] 宋禹青, 李丽丽. 骨髓间充质干细胞与免疫的相互作用及应用[J]. 心血管康复医学杂志, 2019, 28(1): 111-114.
- [5] 张荷焱, 赵英杰, 秦荣. 间充质干细胞的临床应用研究进展[J]. 人民军医, 2018, 61(9): 840-843.
- [6] LEVINE Y A, KOOPMAN F A, FALTYS M, et al. Neurostimulation of the cholinergic anti-inflammatory pathway ameliorates disease in rat collagen-induced arthritis[J]. PLoS One, 2014, 9(8): e104530.
- [7] 杨帆, 杨勇, 廉婧, 等. 胶原诱导性关节炎大鼠在中药作用下对其关节炎指数、IL-1 β 、TNF- α 、PGE2、RANKL 及 OPG 的影响探讨[J]. 贵州医药, 2016, 40(9): 902-904.
- [8] 杜欢, 许霞. 近 5 年来类风湿关节炎发病机制研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报, 2015, 17(10): 77-80.
- [9] 杨晓峰. 超声和 MRI 检查在类风湿关节炎手腕部病变

- 诊断中的应用[J]. 中医正骨, 2018, 30(5): 24-27.
- [10] 龚辉, 邓奕辉, 王衡新, 等. TOLL 样受体 2、4 及其介导的 NF- κ B 信号通路参与类风湿关节炎发病的研究进展[J]. 中医正骨, 2018, 30(7): 29-31.
- [11] WANG L M, WANG L H, CONG X L, et al. Human umbilical cord mesenchymal stem cell therapy for patients with active rheumatoid arthritis: safety and efficacy[J]. Stem Cells Dev, 2013, 22(24): 3192-3202.
- [12] 郭洪亮, 帖小佳, 韩亚军, 等. 定向诱导骨关节炎患者骨髓间充质干细胞向软骨细胞的分化[J]. 中国组织工程研究, 2015, 19(6): 832-836.
- [13] HU F, MU R, ZHU J, et al. Hypoxia and hypoxia-inducible factor-1 α provoke toll-like receptor signalling-induced inflammation in rheumatoid arthritis[J]. Ann Rheum Dis, 2014, 73(5): 928-936.
- [14] LEE S Y, YOON B Y, KIM J I, et al. Interleukin-17 increases the expression of Toll-like receptor 3 via the STAT3 pathway in rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes[J]. Immunology, 2014, 141(3): 353-361.
- [15] KOKEBIE R, AGGARWAL R, LIDDER S, et al. The role of synovial fluid markers of catabolism and anabolism in osteoarthritis, rheumatoid arthritis and asymptomatic organ donors[J]. Arthritis Res Ther, 2011, 13(2): R50.
- [16] MEGUID M H, HAMAD Y H, SWILAM R S, et al. Relation of interleukin-6 in rheumatoid arthritis patients to systemic bone loss and structural bone damage[J]. Rheumatol Int, 2013, 33(3): 697-703.
- [17] VISSER H, LE CESSIE S, VOS K, et al. How to diagnose rheumatoid arthritis early: a prediction model for persistent (erosive) arthritis[J]. Arthritis Rheum, 2002, 46(2): 357-365.
- [18] TIAN J, CHEN J W, GAO J S, et al. Resveratrol inhibits TNF- α -induced IL-1 β , MMP-3 production in human rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes via modulation of PI3kinase/Akt pathway[J]. Rheumatol Int, 2013, 33(7): 1829-1835.
- [19] KAMATA Y, MINOTA S. No increase in synovial fluid level of matrix metalloproteinase-3 by systemic administration of glucocorticoids in rheumatoid arthritis[J]. Eur J Intern Med, 2015, 26(5): 371-372.
- [20] LUZ-CRAWFORD P, TORRES M J, NOËL D, et al. The immunosuppressive signature of menstrual blood mesenchymal stem cells entails opposite effects on experimental arthritis and graft versus host diseases[J]. Stem Cells, 2016, 34(2): 456-469.
- [21] 刘延彤, 张茜, 白海, 等. 类风湿性关节炎患者间充质干细胞治疗后可溶性补体受体 2 的变化及意义[J]. 西北国防医学杂志, 2016, 12(12): 783-786.
- [22] KOIZUMI K, EBINA K, HART D A, et al. Synovial mesenchymal stem cells from osteo- or rheumatoid arthritis joints exhibit good potential for cartilage repair using a scaffold-free tissue engineering approach[J]. Osteoarthritis Cartilage, 2016, 24(8): 1413-1422.
- [23] 边振宇, 王雪鹏, 沈兰娟, 等. 间充质干细胞治疗实验性类风湿性关节炎的疗效及相关机制分析[J]. 浙江临床医学, 2016, 18(5): 804-806.
- [24] ESEONU O I, DE BARI C. Homing of mesenchymal stem cells: mechanistic or stochastic? Implications for targeted delivery in arthritis[J]. Rheumatology (Oxford), 2015, 54(2): 210-218.
- [25] 尹纪伟, 赵福涛, 王艳玲, 等. 骨髓间充质干细胞移植对胶原诱导性关节炎滑膜增殖的影响及机制[J]. 中华临床医师杂志(电子版), 2011, 5(13): 3828-3833.
- [26] 刘贵艳, 边森, 李芳, 等. 骨髓间充质干细胞移植对胶原诱导性关节炎大鼠血清及关节滑膜中白细胞介素-22 及基质金属蛋白酶-3 表达的影响[J]. 中华医学杂志, 2017, 97(9): 698-702.
- (收稿日期: 2019-06-11 本文编辑: 杨雅)
- (上接第 5 页)
- [49] WANG L, SONG Y M, LIU L M, et al. Clinical and radiographic outcomes of dynamic cervical implant replacement for treatment of single-level degenerative cervical disc disease: a 24-month follow-up[J]. Eur Spine J, 2014, 23(8): 1680-1687.
- [50] MATGÉ G, BERTHOLD C, GUNNESS V R, et al. Stabilization with the Dynamic Cervical Implant: a novel treatment approach following cervical discectomy and decompression[J]. J Neurosurg Spine, 2015, 22(3): 237-245.
- [51] PARK J H, RHIM S C, ROH S W. Mid-term follow-up of clinical and radiologic outcomes in cervical total disk replacement (Mobi-C): incidence of heterotopic ossification and risk factors[J]. J Spinal Disord Tech, 2013, 26(3): 141-145.
- [52] 阎凯, 马驰, 韩骁, 等. 颈椎人工间盘置换术与颈椎前路减压融合术治疗双节段脊髓型颈椎退行性疾病的长期随访研究[J]. 骨科临床与研究, 2017, 2(2): 90-95.
- [53] 王文军, 朱永顺, 王麓山, 等. 前路开槽减压固定加人工椎间盘置换术治疗多节段脊髓型颈椎病[J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2007, 17(3): 182-185.
- [54] 马迅, 梅军, 冯皓宇, 等. Hybrid 手术治疗脊髓型颈椎病的临床疗效分析[J]. 中华骨科杂志, 2013, 33(8): 792-796.
- (收稿日期: 2018-07-17 本文编辑: 时红磊)