

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2020.13.002

AZD5069 通过抑制中性粒细胞迁移治疗类风湿关节炎的机制研究*

韩新爱^{1,2} 何娟^{1,2} 宋睿^{1,2} 张晓明^{1,2} 接红宇^{1,2,Δ}

(1 南方医科大学第三附属医院风湿免疫科 广东 广州 510632; 2 广东省骨科研究院临床免疫研究所 广东 广州 510632)

摘要 目的:探讨 CXCR2 拮抗剂 AZD5069 能否通过抑制中性粒细胞迁移治疗类风湿关节炎(RA)。方法:将 45 只雄性 DBA/1J 小鼠随机分为对照组(n=15)、模型组(n=15)、AZD5069 组(n=15);除对照组外,其余两组均给予牛Ⅱ型胶原蛋白+弗氏佐剂建立胶原诱导型关节炎(CIA)模型。观察记录小鼠关节炎评分。二次免疫后第二天给与药物治疗,治疗 3 周后处死小鼠检测关节病理、中性粒细胞浸润、外周血炎症因子等指标。结果:与对照组相比,模型组小鼠关节炎发病率明显升高($P<0.05$);与模型组相比,AZD5069 组小鼠关节炎发病率明显降低($P<0.05$)。与对照组相比,模型组小鼠关节炎评分明显升高($P<0.05$);与模型组相比,AZD5069 组小鼠关节炎评分明显降低($P<0.05$)。对照组小鼠踝关节间隙正常,滑膜无增生,无炎症细胞浸润,软骨面光滑无破坏;模型组小鼠踝关节间隙狭窄,滑膜增生明显,可见大量炎症细胞浸润,软骨侵蚀破坏;与模型组相比,AZD5069 组小鼠踝关节间隙未见明显狭窄,滑膜未见明显增生,炎症细胞浸润明显减轻,软骨未见明显破坏。与对照组相比,模型组小鼠血清中炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 的水平明显升高($P<0.05$);与模型组相比,AZD5069 组小鼠血清中炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 的水平明显降低($P<0.05$)。与对照组相比,模型组小鼠踝关节中性粒细胞明显增多,可见大量中性粒细胞浸润;与模型组相比,AZD5069 组小鼠踝关节中性粒细胞明显减少,中性粒细胞浸润情况明显减轻。结论: CXCR2 拮抗剂 AZD5069 可通过抑制中性粒细胞迁移治疗类风湿关节炎,为开发新型治疗 RA 药物提供理论基础。

关键词: AZD5069; 小鼠; 类风湿关节炎; 中性粒细胞迁移

中图分类号: R-33; R593.22 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2020)13-2406-05

Mechanism of AZD5069 in the Treatment of Rheumatoid Arthritis by Inhibiting Neutrophil Migration*

HAN Xin-ai^{1,2}, HE Juan^{1,2}, SONG Rui^{1,2}, ZHANG Xiao-ming^{1,2}, JIE Hong-yu^{1,2,Δ}

(1 Department of Rheumatology Immunology, The Third Affiliated Hospital of Southern Medical University, Guangzhou, Guangdong, 510632, China; 2 Institute of Clinical Immunology, Guangdong Academy of Orthopedics, Guangzhou, Guangdong, 510632, China)

ABSTRACT Objective: To investigate whether CXCR2 antagonist AZD5069 can treat rheumatoid arthritis (RA) by inhibiting neutrophil migration. **Methods:** 45 Male DBA/1J mice were randomly divided into a control group (n=15), model (CIA) group (n=15), AZD5069 group (n=15). Except for the control group, the other two groups were given bovine type II collagen and Freund's adjuvant to establish collagen-induced arthritis (CIA) model. The arthritis scores of mice were observed and recorded. Drug treatment was given the day after the secondary immunization, the mice were sacrificed after 3 weeks of treatment to measure joint pathology, neutrophil infiltration and peripheral blood inflammatory factors. **Results:** Compared with the control group, the incidence rate of arthritis in the CIA group increased significantly ($P<0.05$), and the incidence rate of arthritis in AZD5069 group was significantly lower than that in the model group ($P<0.05$). Compared with the control group, the arthritis score in the CIA group was significantly higher ($P<0.05$); compared with the CIA group, the arthritis score in the azd5069 group was significantly lower ($P<0.05$). In the control group, the ankle joint space was normal, there was no proliferation of synovium, no infiltration of inflammatory cells, and the cartilage surface was smooth and undamaged; in the CIA group, the ankle joint space was narrow, with obvious proliferation of synovium, with a large number of inflammatory cells infiltration and cartilage erosion; compared with the CIA group, azd5069 group showed no obvious stenosis of ankle joint space, no obvious hyperplasia of synovium, inflammatory cell infiltration was significantly reduced, cartilage was not damaged. Compared with the control group, the serum levels of TNF- α and IL-1 β in the CIA group were significantly higher ($P<0.05$); compared with the CIA group, the serum levels of TNF- α and IL-1 β in the azd5069 group were significantly lower ($P<0.05$). Compared with the control group, the number of neutrophils in the CIA group was significantly increased, and a large number of neutrophils infiltration could be seen; compared with the CIA group, the number of neutrophils in the azd5069 group was significantly reduced, and the infiltration of neutrophils was significantly reduced. **Conclusion:** CXCR2 antagonist AZD5069 can treat rheumatoid arthritis by inhibiting neutrophil migration and provide a

* 基金项目:国家自然科学基金项目(31600732);广州市天河区科技计划项目(201704KW0)

作者简介:韩新爱(1981-),女,博士研究生,主治医师,研究方向:风湿性疾病的发病机制,E-mail: hanxinai1981@163.com

Δ 通讯作者:接红宇(1987-),男,博士研究生,主治医师,研究方向:风湿免疫疾病诊治,E-mail: jiehongyu1987@163.com

(收稿日期:2020-02-05 接受日期:2020-02-28)

theoretical basis for developing new drugs for treating RA.

Key words: AZD5069; Mice; Rheumatoid arthritis; Neutrophil migration

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R593.22 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2020)13-2406-05

前言

类风湿关节炎(Rheumatoid arthritis, RA)是一种病因未明的以滑膜炎为主要病理特征的自身免疫性疾病,可引起多关节、对称性的关节炎症,如不能及时救治,可引起关节畸形,致残率较高,严重危害人民的健康^[1]。最近研究发现,中性粒细胞迁移至炎症关节在RA炎症持续和关节损伤的进展过程中起着重要的作用,在RA患者的关节滑膜和关节炎中均可检测出大量中性粒细胞浸润^[2]。因此阻止中性粒细胞迁移至炎症关节可能是治疗RA的一条重要途径。目前研究发现,CXCR2(CXC chemokine receptor 2)在中性粒细胞迁移过程中起着重要作用^[3]。CXCR2拮抗剂AZD5069可抑制中性粒细胞迁移至炎症部位,其抑制炎症的作用已在多种疾病中得到证实如急性肺损伤、哮喘、慢性阻塞性肺疾病、溃疡性结肠炎等^[4-6]。但有关CXCR2拮抗剂是否可用于治疗慢性炎症性疾病RA的研究尚未见报道。因此本课题采用胶原诱导型关节炎(Collagen induced arthritis, CIA)小鼠模拟类风湿关节炎,并观察CXCR2拮抗剂AZD5069是否可通过抑制中性粒细胞迁移治疗类风湿关节炎,为开发新型治疗RA药物提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 药物及试剂

AZD5069(南京百鑫德诺生物科技有限公司),牛II型胶原(美国Chondrex公司),完全弗氏佐剂(美国Chondrex公司),不完全弗氏佐剂(美国Chondrex公司),髓过氧化物酶(MPO, myeloperoxidase)抗体、Ly6G抗体均购自美国Abcam公司,白细胞介素1 β (interleukin 1 β , IL-1 β)ELISA试剂盒、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF- α)ELISA试剂盒均购自Abcam公司,1%戊巴比妥钠(美国Sigma-Aldrich公司),EDTA脱钙剂(北京鼎国生物技术有限公司),4%多聚甲醛(武汉博士德公司)。

1.2 实验动物

实验所使用小鼠共45只均为SPF级DBA/1J小鼠(6-8周龄,雄性,体重20 $\pm$ 2g),实验动物自上海斯莱克实验动物有限公司采购,许可证号:SCXK(沪)2017-0005。全部实验用鼠饲养于南方医科大学SPF级实验动物中心,所有的操作和实验流程均严格遵守实验动物管理条例。

1.3 仪器

SpectraMax M5多功能酶标仪(美国Molecular Devices公司),台式高速冷冻离心机(美国Beckman公司),光学倒置显微镜(日本Olympus公司),24、96孔板(美国Beckman公司),全自动组织脱水机(德国Leica公司),BMG-III型石蜡包埋机(上海司乐仪器有限公司),超薄切片机(德国Leica公司)。

1.4 CIA小鼠模型的建立

将45只6-8周龄雄性DBA/1J小鼠随机分为对照组

(n=15)、模型组(n=15)、AZD5069组(n=15);首次免疫:将牛II型胶原蛋白以2mg/mL的浓度溶于0.1mol/L醋酸溶液中,随后与完全弗氏佐剂按体积比1:1混合,超声乳化混匀后制备为乳化剂;模型组以及AZD5069组在第0天时于距离小鼠尾巴根部1.5cm处皮下注射0.1mL已制备的乳化剂进行初次致敏,对照组尾部皮下注射等体积溶剂。二次免疫:于第21天进行,将上述牛II型胶原蛋白不完全弗氏佐剂等体积混合,超声乳化混匀制备为乳化剂;各组注射方法及剂量同首次免疫^[7]。

1.5 给药方案

AZD5069干预给药:AZD5069组根据小鼠体重按5mg/kg每日灌胃,对照组及模型组则予灌胃同等体积溶剂。

1.6 关节炎评分

关节炎评分^[8]:从首次致敏的当天开始观察小鼠四肢关节情况,评分标准:0分为正常,1分为轻度红肿,2分为中度红肿,3分为严重肿胀,4分为关节变形、强直,每只最高16分,每周观测3-4次。发病率评估:小鼠关节炎评分保持稳定或连续两天增加至少1分,则认定该小鼠患有关节炎。

1.7 小鼠踝关节组织病理学检测(HE染色)

动物处死后留取踝关节。经10%(体积分数)中性甲醛固定,10%EDTA脱钙、乙醇梯度脱水、石蜡包埋,切片,苏木素-伊红(HE)染色,中性树胶封固后显微镜下观察滑膜、软骨、踝关节间隙的病理改变,光镜观察下踝关节病理变化。

1.8 血清TNF- α 、IL-1 β 炎症因子表达水平和踝关节MPO、Ly6G表达水平

给药3周后麻醉处死小鼠,心脏取血,离心取上清,使用小鼠ELISA检测各组小鼠血清中TNF α 、IL-1 β 炎症因子表达水平,具体方法按照试剂盒说明书。采用免疫组化的方法检测小鼠踝关节MPO、Ly6G表达水平,取小鼠踝关节石蜡标本脱蜡、水化,将组织切片置入枸橼酸溶液,65℃过夜,进行抗原修复,加3% H₂O₂避光孵育消除内源性过氧化物酶的活性;PBS冲洗3次,滴加5%山羊血清封闭孵育1小时,降低非特异性染色;滴加稀释的一抗(MPO或Ly6G)工作液孵育,4℃过夜;PBS冲洗后加入二抗,37℃孵育30分钟;PBS冲洗后加入DAB显色,显微镜下观察。

1.9 统计方法

所有计量资料都以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,应用SPSS 21.0软件进行分析,GraphPad Prism 5.0作图。多样本均数的比较采用单因素方差分析,两组间样本均数比较采用t检验。当P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组小鼠关节炎发病率比较

与对照组相比,模型组小鼠关节炎发病率明显升高(P<0.05);与模型组相比,AZD5069组小鼠关节炎发病率明显降低(P<0.05);如图1所示。结果表明:AZD5069可明显降低CIA模型小鼠关节炎的发病率。

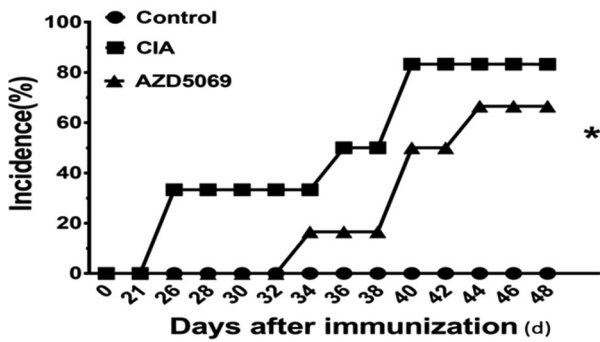


图1 各组小鼠关节炎发病率

Fig.1 Incidence rate of arthritis in mice

Note: compared with CIA group, * $P < 0.05$.

2.2 各组小鼠关节炎评分比较

与对照组相比,模型组小鼠关节炎评分明显升高($P < 0.05$);与模型相比,AZD5069 组小鼠关节炎评分明显降低($P < 0.05$);如图 2、图 3 所示。结果表明:AZD5069 可明显降低 CIA 小鼠关节评分,减轻 CIA 小鼠关节肿胀严重程度。

2.3 各组小鼠踝关节病理学形态比较

对照组小鼠踝关节间隙正常,滑膜无增生,无炎症细胞浸润,软骨面光滑无破坏;模型组小鼠踝关节间隙狭窄,滑膜增生明显,可见大量炎症细胞浸润,软骨侵蚀破坏;与模型组相比,AZD5069 组小鼠踝关节间隙未见明显狭窄,滑膜未见明显增生,炎症细胞浸润明显减轻,软骨未见明显破坏,见图 4。



图2 各组小鼠踝关节大体图

Fig.2 General picture of ankle joint of mice in each group

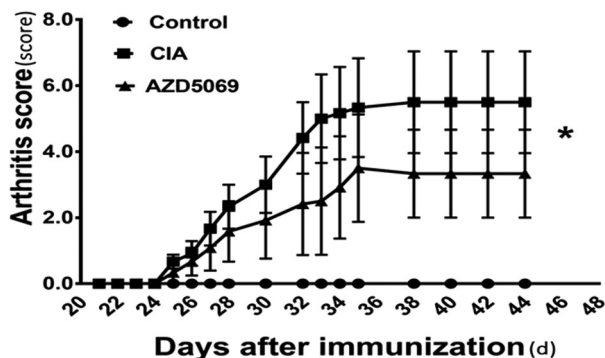


图3 各组小鼠关节炎评分

Fig.3 Arthritis score of mice in each group

Note: compared with CIA group, * $P < 0.05$.

与对照组相比,模型组小鼠血清中炎症因子 $\text{TNF-}\alpha$ 、 $\text{IL-1}\beta$ 的水平明显升高($P < 0.05$);与模型组相比,AZD5069 组小鼠血清中炎症因子 $\text{TNF-}\alpha$ 、 $\text{IL-1}\beta$ 的水平明显降低($P < 0.05$),见图 5。结果表明:AZD5069 可明显降低 CIA 小鼠血清中 $\text{TNF-}\alpha$ 、 $\text{IL-1}\beta$ 的水平。

2.5 各组小鼠中性粒细胞浸润情况比较

采用 MPO、Ly6G 标记小鼠踝关节中性粒细胞,与对照组相比,模型组小鼠踝关节中性粒细胞明显增多,可见大量中性粒细胞浸润;与模型组相比,AZD5069 组小鼠踝关节中性粒细胞明显减少,中性粒细胞浸润情况明显减轻,见图 6。结果表明:AZD5069 可明显降低 CIA 小鼠踝关节中性粒细胞浸润,抑制中性粒细胞迁移至炎症关节。

2.4 各组小鼠血清中 $\text{TNF-}\alpha$ 、 $\text{IL-1}\beta$ 的水平比较

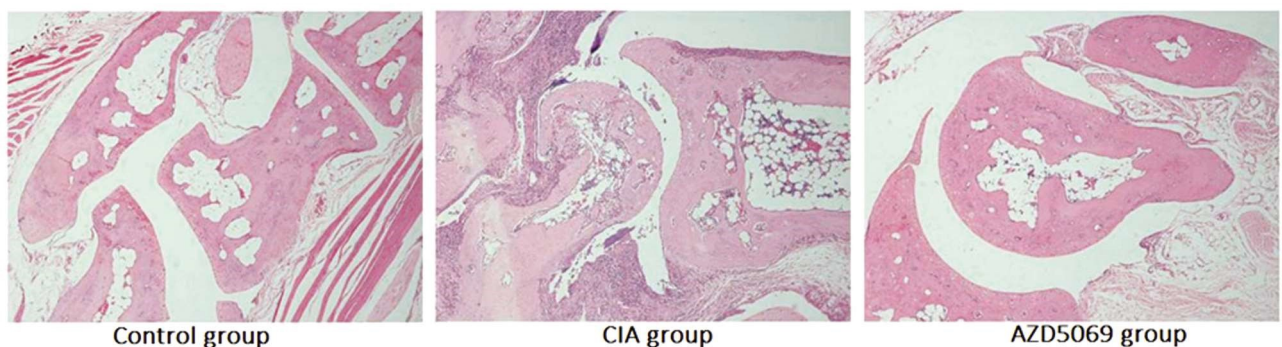
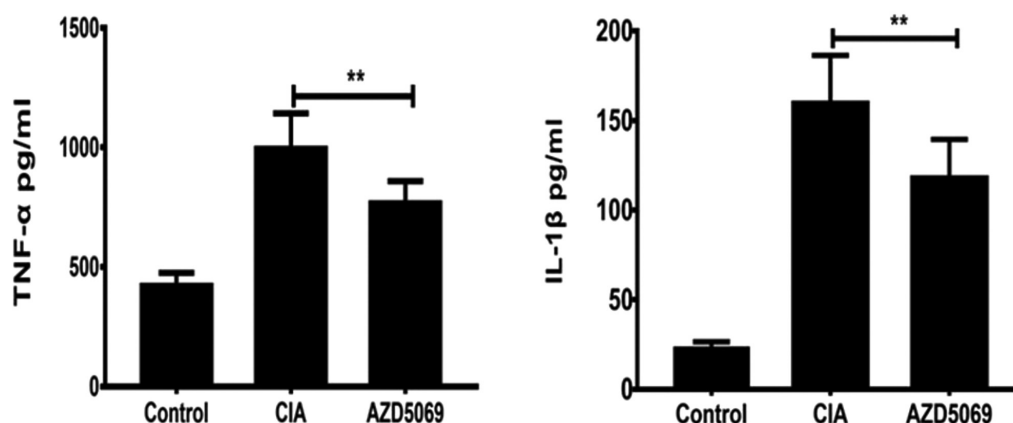
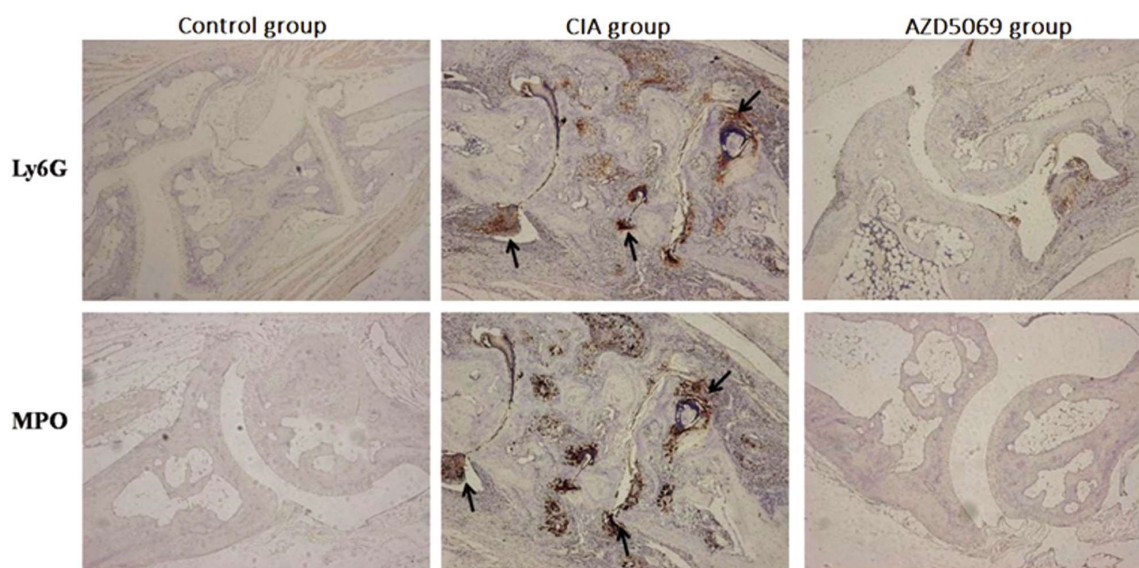


图4 各组小鼠踝关节病理学形态(× 100)

Fig.4 Pathological morphology of ankle joint in each group of mice(× 100)

图5 各组小鼠血清中 TNF- α 、IL-1 β 的水平Fig.5 Levels of TNF- α and IL-1 β in serum of mice in each groupNote: compared with CIA group, ** $P < 0.05$.图6 各组小鼠中性粒细胞浸润情况($\times 100$)Fig.6 Neutrophil infiltration in mice of each group($\times 100$)

3 讨论

类风湿关节炎(RA)是一种以关节滑膜为主要靶组织的自身免疫性疾病,其特点为关节滑膜细胞增生、炎性细胞浸润以及软骨和骨的破坏^[9,10]。如不进行及时有效的治疗,致残率高,社会危害大^[11]。目前认为免疫系统的异常活化,产生针对自身抗原的免疫细胞、细胞因子以及抗体等是RA起病和复发的主要原因^[12-14]。对于RA的研究也多集中于T、B淋巴细胞、树突细胞上^[15,16]。传统的观点认为中性粒细胞在RA的起病中作用有限,然而最近越来越多的证据表明,中性粒细胞在RA的起病和进展过程中也有着至关重要的作用^[17,18]。

中性粒细胞是体内最主要的固有免疫细胞之一,在感染及炎症发生时,第一时间募集到炎症发生地,参与炎症反应^[19,20]。中性粒细胞可以杀死病原体,保护机体,但过度的炎症反应也会引起自身组织的损伤^[21,22]。中性粒细胞可通过分泌多种炎症介质促进RA的发生发展,中性粒细胞可分泌IL-1、IL-6、IL-17、TNF- α 等炎症因子参与RA炎症反应,并可以通过分泌多种趋化因子,趋化更多的中性粒细胞巨噬细胞等到达关节部位,炎症细胞的浸润加重了局部的炎症反应^[23,24]。除了分泌多种

炎症因子以外,中性粒细胞还可以通过释放大量活性氧(ROS)促进RA炎症的发生,ROS的大量释放会促进中性粒细胞、巨噬细胞等炎症细胞分泌多种炎症因子与黏附因子,引起关节炎的加重^[25]。除此以外最近研究^[26,27]发现,中性粒细胞大量募集至炎症关节后,中性粒细胞容易发生中性粒细胞胞外陷阱(Neutrophil extracellular traps, NETs),释放出大量胞内容物,如DNA、组蛋白、弹性蛋白酶(Neutrophil Elastase, NE)、髓过氧化物酶(Myeloperoxidase, MPO),诱导免疫应答,促进炎症反应,最终导致RA发生发展,迁延不愈。综上所述,抑制中性粒细胞募集至炎症关节是减轻RA炎症的一个关键。

目前研究认为,CXCR1/CXCR2属于G蛋白偶联受体,在中性粒细胞上表达,是中性粒细胞迁移到炎症部位的主要介质,被认为在多种炎症性疾病中升高,包括慢性阻塞性肺病(COPD),严重哮喘,类风湿关节炎,牛皮癣,炎症性肠病等。然而,CXCR1还特异性的参与磷脂酶D的激活,以及杀菌能力,表明在炎症条件下,CXCR1和CXCR2可能具有不同的生理作用,提示CXCR2特异性的参与中性粒细胞的趋化。类风湿性关节炎的滑膜液中含有较高水平的CXCR2配体,包括IL-8(CXCL8)、ENA-78(CXCL5)和Groa(CXCL1),它们促进中性粒

细胞不断的迁移至关节,浸润滑膜^[28,29]。CXCR2 在炎症阶段持续募集中性粒细胞到关节,是引起关节慢性炎症的重要原因之一^[30]。因此本研究通过观察 CXCR2 拮抗剂 AZD5069 对 CIA 小鼠的治疗作用,明确是否可通过抑制中性粒细胞迁移治疗 RA。结果显示: CXCR2 拮抗剂 AZD5069 可明显降低 CIA 小鼠的发病率,减轻 CIA 小鼠的关节炎评分;病理结果也提示 AZD5069 可以减轻 CIA 小鼠的关节炎症,减轻 CIA 小鼠的骨破坏;经过 AZD5069 治疗后, CIA 小鼠血清中炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 的水平也明显降低。由此可见, CXCR2 拮抗剂 AZD5069 确实可以减轻 CIA 小鼠的关节炎症,对 CIA 小鼠具有一定的治疗作用。那么 CXCR2 拮抗剂 AZD5069 的治疗作用是否是通过抑制中性粒细胞迁移而发挥的,为此我们采用 MPO、Ly6G 标记小鼠踝关节的中性粒细胞,发现经 AZD5069 治疗后, CIA 小鼠踝关节的中性粒细胞浸润明显减少,提示 AZD5069 可通过抑制中性粒细胞迁移至炎症关节而减轻关节炎症。

综上所述, CXCR2 拮抗剂 AZD5069 可通过抑制中性粒细胞迁移治疗类风湿关节炎。抑制中性粒细胞迁移至炎症关节是治疗 RA 的重要靶点,本研究为开发新型治疗 RA 药物提供了理论基础。

参考文献(References)

- [1] 陆兴热, 陈凤羽, 资云菊, 等. 抗 CCP 抗体、AKA 和 GPI 抗原对类风湿关节炎的诊断价值[J]. 检验医学, 2019, 34(12): 1145-1146
- [2] Emery P, Rondon J, Parrino J, et al. Safety and tolerability of subcutaneous sarilumab and intravenous tocilizumab in patients with rheumatoid arthritis[J]. *Rheumatology (Oxford)*, 2019, 58(5): 849-858
- [3] 于睿鹏, 范潇婷, 童宏选, 等. 喜树碱对小鼠骨髓中性粒细胞 XIAP、TLR4、CXCR2 表达及细胞凋亡影响的研究[J]. *江苏中医药*, 2017, 49(6): 80-82
- [4] Boppana NB, Devarajan A, Gopal K, et al. Blockade of CXCR2 signalling: a potential therapeutic target for preventing neutrophil-mediated inflammatory diseases[J]. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2014, 239(5): 509-518
- [5] O'Byrne PM, Metev H, Puu M, et al. Efficacy and safety of a CXCR2 antagonist, AZD5069, in patients with uncontrolled persistent asthma: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial[J]. *Lancet Respir Med*, 2016, 4(10): 797-806
- [6] Pedersen F, Waschki B, Marwitz S, et al. Neutrophil extracellular trap formation is regulated by CXCR2 in COPD neutrophils[J]. *Eur Respir J*, 2018, 51(4): 1700970
- [7] Choudhary N, Bhatt LK, Prabhavalkar KS. Experimental animal models for rheumatoid arthritis [J]. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 2018, 40(3): 193-200
- [8] 张玲玲, 刘云洁, 童彤, 等. DBA/1 小鼠胶原性关节炎模型建立方法及评价指标[J]. *中国药理学通报*, 2010, 26(8): 1108-1111
- [9] Doody KM, Bottini N, Firestein GS. Epigenetic alterations in rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes[J]. *Epigenomics*, 2017, 9(4): 479-492
- [10] Šenolt L. Revmatoidní artritida[J]. *Vnitr Lek*, 2018, 64(2): 98-106
- [11] Safiri S, Kolahi AA, Hoy D, et al. Global, regional and national burden of rheumatoid arthritis 1990-2017: a systematic analysis of the Global Burden of Disease study 2017 [J]. *Ann Rheum Dis*, 2019, 78(11): 1463-1471
- [12] Karmakar S, Kay J, Gravalles EM. Bone damage in rheumatoid arthritis: mechanistic insights and approaches to prevention [J]. *Rheum Dis Clin North Am*, 2010, 36(2): 385-404
- [13] Calabresi E, Petrelli F, Bonifacio AF, et al. One year in review 2018: pathogenesis of rheumatoid arthritis [J]. *Clin Exp Rheumatol*, 2018, 36(2): 175-184
- [14] Atzeni F, Talotta R, Masala IF, et al. Biomarkers in Rheumatoid Arthritis[J]. *Isr Med Assoc J*, 2017, 19(8): 512-516
- [15] 贾淑媛, 李萍. 淋巴细胞亚群在类风湿关节炎患者外周血中的表达及意义[J]. *中国实验诊断学*, 2019, 23(11): 1943-1946
- [16] 庄辰晨, 罗小红, 莫汉有. TRAF6 基因表达对小鼠胶原诱导性关节炎来源的树突状细胞成熟的影响 [J]. *兰州大学学报 (医学版)*, 2017, 43(1): 20-25
- [17] Holers VM, Demoruelle MK, Kuhn KA, et al. Rheumatoid arthritis and the mucosal origins hypothesis: protection turns to destruction[J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2018, 14(9): 542-557
- [18] 刘勤, 张学军, 岳超. 中性粒细胞与淋巴细胞比值在类风湿关节炎诊断中的价值分析[J]. *天津医科大学学报*, 2019, 25(4): 366-368, 377
- [19] Chatfield SM, Thieblemont N, Witko-Sarsat V. Expanding Neutrophil Horizons: New Concepts in Inflammation[J]. *J Innate Immun*, 2018, 10(5-6): 422-431
- [20] Hahn J, Knopf J, Maueröder C, et al. Neutrophils and neutrophil extracellular traps orchestrate initiation and resolution of inflammation [J]. *Clin Exp Rheumatol*, 2016, 34(4 Suppl 98): 6-8
- [21] Nathan C. Neutrophils and immunity: challenges and opportunities [J]. *Nat Rev Immunol*, 2006, 6(3): 173-182
- [22] 梁新月, 张云云, 闫建设. 中性粒细胞 -- 炎症反应中的双刃剑[J]. *自然杂志*, 2019, 41(5): 370-375
- [23] 李亚芹, 闫勇, 黄敏, 等. 类风湿性关节炎患者血清 GM-CSF, IL-6, TNF- α 水平的变化及其临床意义[J]. *现代生物医学进展*, 2017, 17(24): 4702-4705
- [24] 陈向华, 王建吉, 耿学丽, 等. 白细胞介素 -17 对老年类风湿关节炎患者成纤维样滑膜细胞增殖和趋化因子分泌的影响及作用机制 [J]. *中国老年学杂志*, 2018, 38(1): 45-47
- [25] Björkman L, Dahlgren C, Karlsson A, et al. Phagocyte-derived reactive oxygen species as suppressors of inflammatory disease[J]. *Arthritis Rheum*, 2008, 58(10): 2931-2935
- [26] de Bont CM, Eerden N, Boelens WC, et al. Neutrophil proteases degrade autoepitopes of NET-associated proteins[J]. *Clin Exp Immunol*, 2020, 199(1): 1-8
- [27] Wang W, Peng W, Ning X. Increased levels of neutrophil extracellular trap remnants in the serum of patients with rheumatoid arthritis[J]. *Int J Rheum Dis*, 2018, 21(2): 415-421
- [28] Katano M, Kurokawa MS, Matsuo K, et al. Phosphoproteome analysis of synoviocytes from patients with rheumatoid arthritis [J]. *Int J Rheum Dis*, 2017, 20(6): 708-721
- [29] Liu W, Sun Y, Cheng Z, et al. Crocin exerts anti-inflammatory and anti-arthritis effects on type II collagen-induced arthritis in rats [J]. *Pharm Biol*, 2018, 56(1): 209-216
- [30] Sadik CD, Kim ND, Luster AD. Neutrophils cascading their way to inflammation[J]. *Trends Immunol*, 2011, 32(10): 452-460