

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2015.08.014

退变腰椎间盘中 IL-17 表达的变化及其意义

张 炼^{1,2} 钱济先^{1△} 刘永明¹ 袁秀春¹ 马保安¹

(1 第四军医大学唐都医院骨科 陕西 西安 710038; 2 兰州军区兰州总医院骨科 甘肃 兰州 730050)

摘要 目的:研究退变的椎间盘组织中 IL-17 表达的变化及其与椎间盘退变严重程度之间的关系。**方法:**收集退变椎间盘标本 23 例,正常椎间盘标本 12 例,通过免疫组织化学染色、免疫荧光染色、实时-定量 PCR(RT-PCR)和酶联免疫吸附实验(ELISA)从细胞、蛋白和基因水平检测椎间盘组织中 IL-17 和孤独受体(retinoid-related orphan receptor, ROR γ t)的表达。**结果:**免疫组化染色显示退变椎间盘组织中 IL-17 阳性细胞比例较对照组明显增高,有统计学差异($P<0.05$);免疫荧光染色显示退变椎间盘组织中 Th17 细胞含量明显增多($P<0.05$);退变的椎间盘组织中 IL-17 和 ROR γ t mRNA 的相对表达量较对照组增加,有统计学差异($P<0.001$),且两者之间呈显著正相关($r=0.6919$, $P<0.001$);退变的椎间盘组织中 IL-17 的含量较对照组明显增加($P<0.01$),且与椎间盘退变的严重程度呈正显著相关($r=0.4714$, $P<0.01$)。**结论:**IL-17 含量增加参与了腰椎间盘退变的病理过程,并且可能对椎间盘退变起促进作用。

关键词:椎间盘退变; Th17 细胞; IL-17; ROR γ t

中图分类号: R681.53 文献标识码: A 文章编号: 1673-6273(2015)08-1457-04

The Changes of IL-17 Expression in Degenerated Human Lumbar Intervertebral Disc and its Significance

ZHANG Lian^{1,2}, QIAN Ji-xian^{1△}, LIU Yong-ming¹, QIU Xiu-chun¹, MA Bao-an¹

(1 Department of Orthopaedics, Tangdu Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710038, China;

2 Department of Orthopaedics, Lanzhou General Hospital, Lanzhou, Gansu, 730050, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the expression of IL-17 in degenerated human lumbar intervertebral disc tissues, and explore the relationship between IL-17 expression and severity of intervertebral disc degeneration. **Methods:** The level of IL-17 protein and Th17 cells were respectively determined by immunohistochemistry and immunofluorescence in 35 surgical lumbar intervertebral disc tissues (23 samples from patients with lumbar disc degeneration and 12 non-degenerated control tissues from patients with lumbar acute fractures). IL-17 and retinoid-related orphan receptor (ROR γ t) mRNA levels were respectively measured by real-time PCR (RT-PCR) and ELISA. **Results:** The percentage of IL-17(+) cells was significantly higher than that of the control group($P<0.05$). Immunofluorescent staining showed that the percentage of Th17 (+) cells in degenerated human lumbar intervertebral disc tissues was evidently increased ($p<0.05$). The mean IL-17 and ROR γ t mRNA levels in degenerated disc tissues group were significantly higher than those in the non-degenerated controls ($P<0.001$). ELISA results showed IL-17 expression was significantly enhanced in degenerate human lumbar intervertebral disc tissues, compared with the non-degenerated control tissues ($P<0.01$). The expression level of IL-17 mRNA was evidently higher than that of the control group($P<0.01$), and was positively correlated with the severity of intervertebral disc degeneration ($r=0.4714$, $P<0.01$). **Conclusion:** The increase of IL-17 expression was involved in the pathological process of lumbar disc degeneration, which may contribute to the incidence of lumbar disc degeneration.

Key words: Intervertebral disc; Th17 cell; IL-17; ROR γ t

Chinese Library Classification (CLC): R681.53 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2015)08-1457-04

前言

椎间盘退变(intervertebral disc degeneration, IVDD)是引起急性腰腿疼痛的主要原因,严重的影响了人类健康,给患者及其家庭带来了巨大的经济负担。椎间盘退变的发生机制尚不十

分明确,以往报道其主要以解剖学和生物学的改变为特征,包括凋亡导致的细胞丢失、基质变异以及椎间盘含水量减少导致的高度下降等^[1]。此外,许多炎症细胞和促炎细胞因子在退变的椎间盘中高表达,可能加速了椎间盘的退变过程^[2]。

Th17 细胞是新近发现的一类 T 细胞亚群,主要分泌细胞因子 IL-17,表达转录因子 ROR γ t^[3]。研究发现 Th17 细胞参与了多种炎性及自身免疫性疾病的病理过程^[4,5],但 Th17 细胞及其细胞因子是否参与了椎间盘退变的病理过程及作用机制尚不明确。本研究通过免疫组织学染色、RT-PCR 和 ELISA 技术从细胞、蛋白及基因水平检测退变椎间盘中 Th17 细胞及其相

作者简介:张炼(1981-),男,硕士研究生,主治医师,主要从事椎间盘退变与修复研究,电话:18693123654, E-mail: duleng81@126.com

△通讯作者:钱济先,男,教授,主任医师,硕士生导师,主要从事椎间盘退变与修复研究, E-mail: qianjx@fmmu.edu.cn

(收稿日期:2014-07-07 接受日期:2014-07-31)

关的转录因子 ROR γ t 和细胞因子 IL-17 的水平,旨在探讨 Th17 细胞及 IL-17 在椎间盘退变中的作用及意义。

1 资料与方法

1.1 研究对象和分组

实验组(IVDD):收集 2013 年 10 月至 2014 年 4 月就诊于第四军医大学唐都医院骨科行手术治疗的腰椎间盘突出患者 23 例,其中女性 10 例,男性 13 例,年龄范围 29~68 岁,平均年龄 46.00 ± 12.04 岁,经 MRI 检查符合腰椎间盘突出标准,即椎间盘结构不均,颜色变暗,信号下降,髓核与纤维环界限不清,高度下降。

对照组(HCs):收集同期就诊于唐都医院骨科急性创伤导致腰椎骨折需手术切除椎间盘减压患者 12 例,女性 5 例,男性 7 例,年龄范围 23~68 岁,平均年龄 40.75 ± 13.69 岁。患者术前均无腰腿疼痛病史,并经 MRI 证实无椎间盘退变征象,即椎间盘结构均匀,为白色高强度信号,高度正常。椎间盘标本经后路手术获得,取材部位均为腰 1~5 椎间盘组织。

所有受试人员均签署知情同意书,并经第四军医大学伦理委员会批准。

1.2 实验方法

1.2.1 免疫组织化学检测椎间盘组织中 IL-17 的含量 椎间盘组织使用 4%多聚甲醛固定,石蜡包埋,以 4 μ m 厚度进行连续切片,58 $^{\circ}$ C 烤片 18 h,常规二甲苯脱蜡至水;抗原修复 95 $^{\circ}$ C 10 min $\times$ 2 次,室温孵育(5~10) min;滴加 1:100 稀释的抗人 IL-17 单克隆抗体 (abcam 公司,美国),4 $^{\circ}$ C 过夜;滴加二抗

GTVisionIII 抗鼠/兔通用型(Gene Tech 公司,中国)室温孵育 30 min;DAB 显色(8~12) min,流水冲洗终止反应;苏木素衬染;常规树脂封片。

1.2.2 免疫荧光染色观察椎间盘组织中 Th17 细胞的含量 新鲜的椎间盘组织放入 4%多聚甲醛中固定 8 小时,转入 30%蔗糖中脱水至标本沉底,OTC 包埋,冰冻切片机连续切片,厚度 20 μ m,丙酮中固定 15 min,室温干燥 30 min;PBS 洗涤,5% BSA 封闭 1h;加抗人 CD4-FITC mAb(1:100)(biolegend 公司,美国)、IL-17-PE mAb(1:100)(biolegend 公司,美国),4 $^{\circ}$ C 避光孵育过夜;PBS 洗涤后 50%的甘油封片,避光保存于 4 $^{\circ}$ C 冰箱中,3 天内共聚焦显微镜下观察并拍照。

1.2.3 RT-PCR 检测椎间盘组织中 IL-17 和 ROR γ t 的 mRNA 相对表达 取椎间盘组织标本 100 mg,加入 1 mL RNAiso Plus,按说明书操作(Takara 公司,日本),收集组织总 RNA 溶于 20 μ L DEPC 水,使用 PrimeScript RT reagent Kit 试剂盒(Takara 公司,日本),将 mRNA 反转录成 cDNA,所得 cDNA 保存于 -20 $^{\circ}$ C 冰箱备用。取 1 μ L 反应产物做模板,用特异性引物进行 PCR 反应(引物序列见表 1),采用 SYBR $^{\circ}$ Premix Ex Taq II 反应试剂盒(Takara 公司,日本),按说明书配成 10 μ L 反应体系,每个样本做 3 个复孔,同时设不加模板 cDNA 的阴性对照,在荧光定量 PCR 仪(Bio-Rad 公司,美国)上进行基因扩增。反应参数:95 $^{\circ}$ C 预变性 5 min,95 $^{\circ}$ C 变性 20 s,60 $^{\circ}$ C 退火 20 s,65 $^{\circ}$ C 延伸 20 s,共 40 个循环,最后一个循环结束后,72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min,结果采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 分析。

表 1 ROR γ t、IL-17 和 GAPDH 引物序列
Table 1 Primer sequences of ROR γ t, IL-17 and GAPDH

Primer	Forward primer	Reverse primer
ROR γ t	GCAGCCAGCTGAGAAGAGTT	ATATGGTTCAGGGGCTTGTG
IL-17	CATCCATAACCGGAATACCAATA	TAGTCCACGTTCCCATCAGC
GAPDH	GACCTGACCTGCCGTCTA	AGGAGTGCGGTGTCGCTGT

1.2.4 酶联免疫吸附试验(ELISA)检测椎间盘组织中 IL-17 的含量 取椎间盘组织标本 250 mg 加入 PBS,按 1:100 的体积比例加入 PMSF,均浆并离心后收集上清液,使用 BCA 蛋白定量试剂盒 (Pierce 公司,美国)进行蛋白定量。使用抗人 IL-17 ELISA 试剂盒(ebioscience 公司,美国)按说明书步骤进行检测。最后通过标准品的 OD 值和浓度画出标准曲线,根据样品 OD 值在该曲线上对应的数值计算出相应血清中 IL-17 的含量。

1.3 统计学分析

应用 SPSS 17.0 软件对实验数据进行分析。两组间数据比较采用非参数秩和检验(Mann-Whitney U 检验);相关性检验采用 Spearman 相关性分析;双侧 P 值 $\leq$ 0.05 认为具有统计学意义。

2 结果

2.1 组织学染色检测椎间盘组织中 Th17 细胞及 IL-17 的表达

免疫组织化学染色结果显示 IL-17 阳性表达定位于细胞

浆内,呈棕黄色或呈棕褐色;免疫荧光染色显示 CD4 $^{+}$ 呈绿色,位于细胞膜,IL-17 $^{+}$ 呈红色,位于细胞浆,CD4 $^{+}$ IL-17 $^{+}$ 细胞被认为是 Th17 细胞。每个标本于 100 倍镜下选取 9 个视野,每个视野内 1 个以上阳性细胞记为阳性,无免疫阳性细胞记为阴性^[6]。免疫组织化学染色结果显示在正常椎间盘组织中只能见到极少量的 IL-17 阳性细胞,阳性细胞率为 $5.56 \pm 7.49\%$;在退变的椎间盘组织中,可见到散在的胞浆被染成棕褐色的 IL-17 阳性细胞,阳性细胞率为 $52.66 \pm 27.26\%$,与正常椎间盘组织比较有统计学差异($P < 0.05$)。免疫荧光结果显示在正常椎间盘组织中极少有 Th17 细胞存在,阳性细胞率为 $4.63 \pm 5.72\%$;而退变的椎间盘组织中 Th17 细胞数量明显增多,阳性细胞率为 $43.00 \pm 30.39\%$,较正常椎间盘组织显著升高($P < 0.05$),见图 1。

2.2 RT-PCR 检测椎间盘组织中 IL-17 和 ROR γ t mRNA 的相对表达

退变的椎间盘组织中 IL-17 和 ROR γ t mRNA 的相对表达量均较对照组明显增高,有统计学差异($P < 0.001$),见图 2。

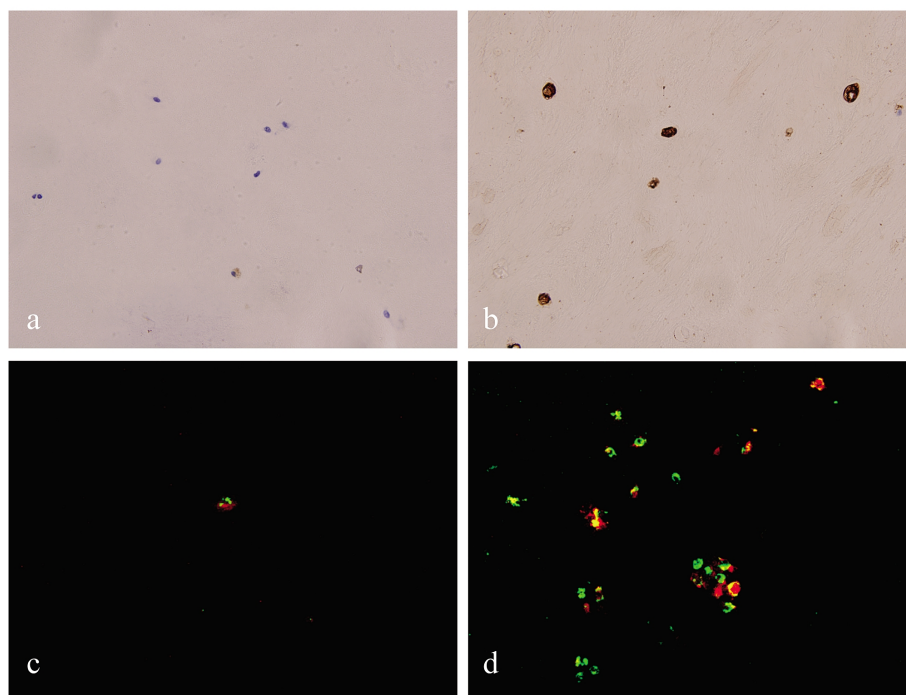


图1 腰椎间盘的免疫组织化学及免疫荧光染色 a~b 为 IL-17 免疫组织化学染色;c~d 免疫荧光染色 CD4+(绿色),IL-17+(红色);a,c 正常椎间盘组织;b,d 退变椎间盘组织($\times 200$)

Fig.1 Lumbar intervertebral discs immunohistochemistry and immunofluorescence staining ($\times 200$)

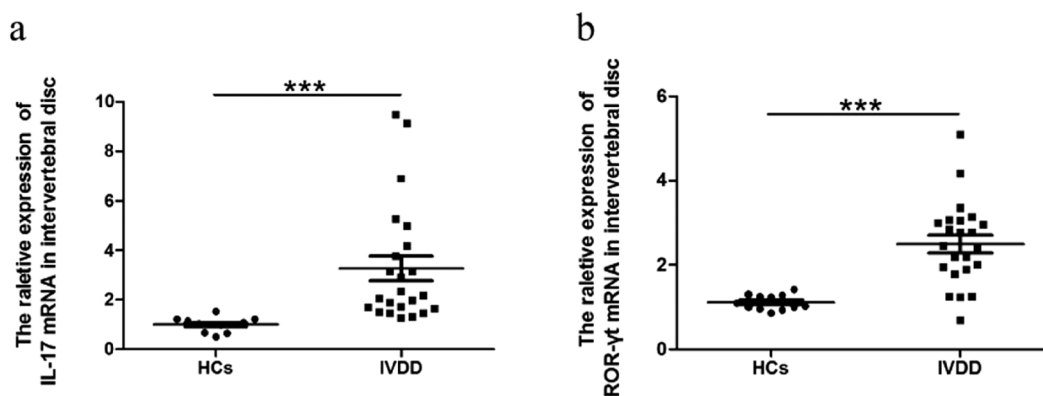


图2 a 椎间盘组织中 IL-17 mRNA 的相对表达量;b 椎间盘组织中 ROR γ t mRNA 的相对表达量

(*** $P < 0.001$)

Fig.2 The relative expression of IL-17 mRNA and ROR γ t mRNA in lumbar intervertebral discs(*** $P < 0.001$)

2.3 ELISA 检测椎间盘组织中 IL-17 的含量

正常的椎间盘组织中只有微量的 IL-17, 而退变的椎间盘组织中 IL-17 含量明显增高, 两组之间比较有统计学差异($P < 0.01$), 见图 3。

2.4 退变的椎间盘组织中 IL-17 和 ROR γ t mRNA 表达的相关性

采用 spearman 相关性分析探讨退变的椎间盘组织中 IL-17 和 ROR γ t mRNA 表达的相关性, 结果显示二者呈显著正相关($r = 0.6919$, $P < 0.001$)。此外, 将椎间盘标本按照 Pfirrmann 分级标准^[7]进行分级, 级别越高椎间盘退变程度越重, 结果 I 级 12 例, II 级 3 例, III 级 9 例, IV 级 5 例, V 级 6 例, 椎间盘组织中 IL-17 含量与椎间盘分级呈显著正相关($r = 0.4714$, $P < 0.01$)。

3 讨论

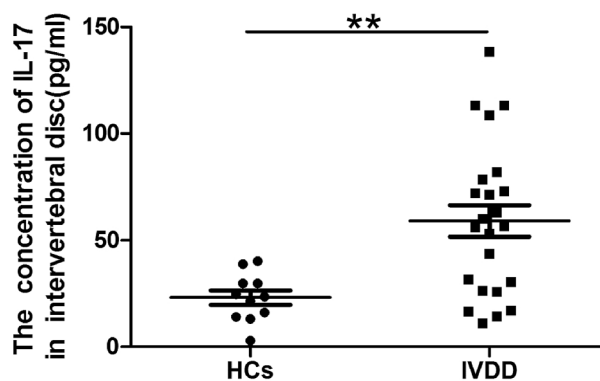


图3 正常和退变的椎间盘组织中 IL-17 的含量比较(** $P < 0.01$)

Fig.3 Comparison of the concentration of IL-17 between normal and degenerated intervertebral discs(** $P < 0.01$)

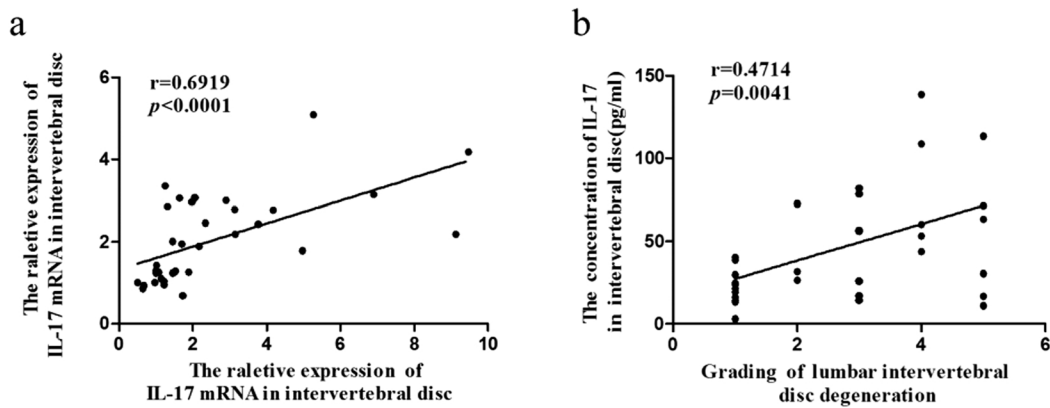


图 4 a 退变的椎间盘组织中 IL-17 和 ROR γ t mRNA 表达呈显著正相关($r=0.6919$, $P<0.001$); b 退变的椎间盘组织中 IL-17 蛋白含量与椎间盘退变严重程度呈显著正相关($r=0.4714$, $P<0.01$)

Fig.4 a The mRNA expressions of IL-17 and ROR γ t were positively correlated in the degenerated intervertebral discs($r=0.6919$, $P<0.001$); b The content of IL-17 was positively correlated with the severity of degenerated intervertebral discs($r=0.4714$, $P<0.01$)

椎间盘的主要作用是加强脊髓的持重能力及灵活性,主要依靠于纤维软骨样细胞和髓核细胞分泌的细胞外的胶原蛋白基质^[8]。椎间盘退变引起的腰腿疼痛是常见的就诊原因之一,严重影响人们的生活。但椎间盘退行性变确切机制目前尚不清楚,既往的研究表明椎间盘异常的机械负荷、异常营养代谢、基质金属蛋白酶活性增高、细胞凋亡等均参与了椎间盘退行性变的发生。此外,正常的椎间盘没有血管存在,且通过表达 Fas 配体引起浸润的淋巴细胞凋亡而成为免疫豁免组织^[9]。但退变椎间盘的这种免疫豁免被打破,髓核组织暴露于机体的免疫组织,引起异常的免疫反应,来自周围淋巴结的免疫细胞聚集在退变的椎间盘组织中,并有大量免疫球蛋白和补体膜攻击复合物沉积^[10]。退变的椎间盘中存在大量炎性细胞及炎性介质浸润,高表达 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6、IL-12 和 IFN- γ ^[2]。用突出的椎间盘进行组织培养,可较对照组产生更多的 IL-8、前列腺素 E2 (PGE2) 和 NO^[11]。这些细胞可以促进淋巴细胞活化和分化,募集巨噬细胞聚集^[12,13],扰乱髓核中微环境稳态,在 IVDD 的发生和发展中起重要作用。

Th17 细胞是 2005 年发现的一群新的 CD4⁺T 细胞亚群,主要参与细胞外病原菌及真菌的清除,并诱导慢性炎症反应^[14],近期,研究还发现 Th17 参与了多种自身免疫性疾病的病理过程^[5]。IL-17 是 Th17 细胞分泌的特异性的细胞因子,于 1999 年在 RA 患者的滑膜中就发现了 IL-17^[15]。体外实验证实 IL-17 通过诱导粒细胞克隆刺激因子和 IL-8 募集嗜中性粒细胞到炎症组织中,且 IL-17 可以促进 NO、PGE2 产生和 IL-6 等炎性介质的释放^[16]。此外,IL-17F 还可以增加 MMP-1、MMP-13 和 MMP-3 的表达,而 MMP 与椎间盘退变有密切关系^[17]。因此,IL-17 可能也参与了椎间盘退变的过程。

本研究采用免疫荧光双染的方法检测了退变的椎间盘组织中 Th17 细胞的含量,并且从蛋白和基因的水平检测了 Th17 及其特异的转录因子的表达。结果显示退变的椎间盘组织中 Th17 细胞、ROR γ t 和 IL-17 水平均较对照组明显增高,提示 Th17 细胞及其细胞因子 IL-17 参与了椎间盘退变的病理过程。此外,IL-17 含量与椎间盘退变的严重程度呈显著正相关,提示 IL-17 可能对椎间盘退变具有促进作用。

目前,椎间盘突出主要治疗方法为手术去除退变的椎间盘组织,虽取得了一定疗效,但并不能从根本上延缓甚至逆转椎间盘的退变,且很少有针对椎间盘退变的干预方法。Ixekizumab 和 secukinumab 是针对 IL-17A 的抗体,在关节炎患者的临床实验中,静脉给予 ixekizumab 或 secukinumab 可以使患者病情在治疗第 1 周即得到缓解^[18]。因此,我们推测针对 Th17 细胞或 IL-17 的靶向药物可能为预防椎间盘退变开辟新的途径。

参考文献(References)

- [1] Galbusera F, van Rijsbergen M, Ito K, et al. Ageing and degenerative changes of the intervertebral disc and their impact on spinal flexibility [J]. Eur Spine J, 2014 [Epub ahead of print]
- [2] Risbud MV, Shapiro IM. Role of cytokines in intervertebral disc degeneration: pain and disc content[J]. Nat Rev Rheumatol, 2014, 10 (1): 44-56
- [3] Mitsdoerffer M, Lee Y, Jager A, et al. Proinflammatory T helper type 17 cells are effective B-cell helpers [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2010, 107(32): 14292-14297
- [4] Kleiweietfeld M, Hafler DA. The plasticity of human Treg and Th17 cells and its role in autoimmunity [J]. Semin Immunol, 2013, 25(4): 305-312
- [5] Bishu S, Su EW, Wilkerson ER, et al. Rheumatoid arthritis patients exhibit impaired Candida albicans-specific Th17 responses [J]. Arthritis Res Ther, 2014, 16(1): R50
- [6] Shamji MF, Setton LA, Jarvis W, et al. Proinflammatory cytokine expression profile in degenerated and herniated human intervertebral disc tissues[J]. Arthritis Rheum, 2010, 62(7): 1974-1982
- [7] Griffith JF, Wang YX, Antonio GE, et al. Modified Pfirrmann grading system for lumbar intervertebral disc degeneration[J]. Spine (Phila Pa 1976), 2007, 32(24): E708-712
- [8] Wang SZ, Rui YF, Tan Q, et al. Enhancing intervertebral disc repair and regeneration through biology: platelet-rich plasma as an alternative strategy[J]. Arthritis Res Ther, 2013, 15(5): 220
- [9] Wang HQ, Samartzis D. Clarifying the nomenclature of intervertebral disc degeneration and displacement: from bench to bedside [J]. Int J Clin Exp Pathol, 2014, 7(4): 1293-1298

(下转第 1487 页)

- 癌变因素分析[J]. 现代消化及介入诊疗, 2012, 17(3): 127-129
- Lai Xiao-rong, Sha Wei-hong, Lin Huan-jian, et al. Malignant colorectal polyps: endoscopic features, therapy and high risk factors [J]. Modern Digestion & Intervention, 2012, 17(3): 127-129
- [10] 邹大余,程娟,谭钧元,等. 不同年龄大肠息肉患者的临床病理特征分析[J]. 现代生物医学进展, 2014, 14(16): 3112-3114
- Kuai Da-yu, Cheng Juan, Tan Jun-yuan, et al. Clinical Analysis of Pathological Characteristics about Colorectal Polyps at Different Ages[J]. Progress in Modern Biomedicine, 2014, 14(16): 3112-3114
- [11] Hu H, Chang DT, Nikiforova MN, et al. Clinicopathologic features of synchronous colorectal carcinoma: A distinct subset arising from multiple sessile serrated adenomas and associated with high levels of microsatellite instability and favorable prognosis [J]. Am J Surg Pathol, 2013, 37(11): 1660-1670
- [12] Şavlovski C, Comandaşu M, Şerban D. Specifics of diagnosis and treatment in synchronous colorectal cancers (SCC) [J]. Chirurgia (Bucur), 2013, 108(1): 43-45
- [13] M. Alecu L, Simion ND, Straja, et al. Multiple Polyps and Colorectal Cancer[J]. Chirurgia, 2014, 109(3): 342-346
- [14] 苏芳,罗雁,李宇深,等. 结肠息肉临床和病理分析[J]. 中国实用医药, 2012, 7(27): 119-121
- Su Fang, Luo Yan, Li Yu-Shen, et al. Clinical and pathological analysis of colon polyps[J]. China Prac Med, 2012, 7(27): 119-121
- [15] 于亚男,张琪,田宇彬,等. 大肠息肉的发生与青岛地区生活方式及饮食习惯的相关性[J]. 世界华人消化杂志, 2011, 19(6): 631-635
- Yu Ya-nan, Zhang Qi, Tian Zi-bin, et al. Correlation of lifestyles and dietary habits with risk of colorectal polyps in Qingdao [J]. World Journal of Gastroenterology, 2011, 19(6): 631-635
- [16] 林三仁. 实用临床消化病学[M]. 北京:科学技术文献出版社, 2007
- Lin San-ren. Practical clinical gastroenterology [M]. Beijing: Science Press, 2007
- [17] Singh H, Demers AA, Xue L, et al. Time trends in colon cancer incidence and distribution and lower gastrointestinal endoscopy utilization in Manitoba[J]. Am J Gastroenterol, 2008, 103(5): 1249-1256
- [18] Saltzstein SL, Behling CA. Age and time as factors in the left-to-right shift of the subsite of colorectal adenocarcinoma: a study of 213383 cases from the California Cancer Registry [J]. J Clin Gastroenterol, 2007, 41(2): 173-177
- [19] Matanoski G, Tao XG, Almon L, et al. Demographics and tumor characteristics of colorectal cancers in the United States, 1998-2001 [J]. Cancer, 2006, 107(5 Suppl): 1112-1120
- [20] Ponz de Leon M, Marino M, Benatti P, et al. Trend of incidence, subsite distribution and staging of colorectal neoplasms in the 15-year experience of a specialised cancer registry[J]. Ann Oncol, 2004, 15(6): 940-946
- [21] 陶文武,高峰. 无症状体检者结肠息肉分布特征 1990 例. 世界华人消化杂志, 2014, 22(7): 1037-1041
- Tao Wen-wu, Gao Feng. Distribution characteristics of colorectal polyps in 1990 cases of asymptomatic subjects [J]. World Journal of Gastroenterology, 2014, 22(7): 1037-1041

(上接第 1460 页)

- [10] Gronblad M, Habtemariam A, Virri J, et al. Complement membrane attack complexes in pathologic disc tissues[J]. Spine (Phila Pa 1976), 2003, 28(2): 114-118
- [11] O'Donnell JL, O'Donnell AL. Prostaglandin E2 content in herniated lumbar disc disease[J]. Spine (Phila Pa 1976), 1996, 21(14): 1653-1655; discussion 1655-1656
- [12] Nerlich AG, Weiler C, Zipperer J, et al. Immunolocalization of phagocytic cells in normal and degenerated intervertebral discs [J]. Spine (Phila Pa 1976), 2002, 27(22): 2484-2490
- [13] Gronblad M, Virri J, Tolonen J, et al. A controlled immunohistochemical study of inflammatory cells in disc herniation tissue [J]. Spine (Phila Pa 1976), 1994, 19(24): 2744-2751
- [14] Isono F, Fujita-Sato S, Ito S. Inhibiting RORgamma/Th17 axis for autoimmune disorders[J]. Drug Discov Today, 2014 [Epub ahead of print]
- [15] Aarvak T, Chabaud M, Miossec P, et al. IL-17 is produced by some proinflammatory Th1/Th0 cells but not by Th2 cells [J]. J Immunol, 1999, 162(3): 1246-1251
- [16] Schwarzenberger P, La Russa V, Miller A, et al. IL-17 stimulates granulopoiesis in mice: use of an alternate, novel gene therapy-derived method for in vivo evaluation of cytokines [J]. J Immunol, 1998, 161(11): 6383-6389
- [17] Tanigawa S, Aida Y, Kawato T, et al. Interleukin-17F affects cartilage matrix turnover by increasing the expression of collagenases and stromelysin-1 and by decreasing the expression of their inhibitors and extracellular matrix components in chondrocytes [J]. Cytokine, 2011, 56(2): 376-386
- [18] Hueber W, Patel DD, Dryja T, et al. Effects of AIN457, a fully human antibody to interleukin-17A, on psoriasis, rheumatoid arthritis, and uveitis[J]. Sci Transl Med, 2010, 2(52): 52-72