

未成熟树突状细胞对小鼠胶原诱导性关节炎的治疗作用

杨晓 彭昊 周建林 方洪松 陈森

【摘要】 目的 探讨未成熟树突状细胞(imDC)对小鼠胶原诱导性关节炎(CIA)的治疗作用及其机制。**方法** 分离、培养小鼠骨髓来源的单核细胞,经细胞因子和脂多糖(LPS)分别诱导为未成熟树突状细胞(imDC)和成熟树突状细胞(mDC),并采用流式细胞技术核对细胞表型。选取 6~8 周龄雌性 BALB/c 小鼠 30 只,鸡 II 型胶原对所有小鼠初次免疫,于初次免疫后第 6 天按随机数字表法将小鼠分为 imDC 组、mDC 组和磷酸盐缓冲液(PBS)组,每组 10 只,并分别经尾静脉输注 imDC、mDC 和 PBS;初次免疫后第 7 天对 3 组小鼠行加强免疫。于加强免疫后第 21 天观察 3 组小鼠的关节变形程度,并检测其关节炎指数(AI)、血清抗炎因子 IL-10、TGF- β 水平以及脾脏 CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞(Treg)比例。**结果** 经 IL-4 和 GM-CSF 诱导后,骨髓单核细胞 CD80、CD86、MHC-II 的表达率分别为 32.3%、25.6%、44.0%,经 IL-4、GM-CSF 和 LPS 诱导后,CD80、CD86、MHC-II 的表达率分别为 91.5%、90.9%、94.2%,即 imDC 和 mDC 诱导分化成功。加强免疫后第 21 天,imDC 组小鼠 AI 值为(7.32 \pm 1.63)分,显著优于同时时间点的 mDC 组[(13.64 \pm 2.02)分]和 PBS 组[(12.78 \pm 1.96)分]。加强免疫后第 21 天,经 ELISA 检测,imDC 组 CIA 小鼠血清 IL-10 和 TGF- β 以及脾脏 CD4⁺CD25⁺Treg 比例均显著高于同时时间点的 mDC 组和 PBS 组,差异均有统计学意义($P < 0.01$)。**结论** 未成熟树突状细胞可有效抑制小鼠 CIA 的进展,其作用机制可能与未成熟树突状细胞可通过上调抗炎细胞因子的表达,刺激 Treg 细胞的增殖,从而诱导免疫耐受有关。

【关键词】 类风湿关节炎; 胶原诱导性关节炎; 树突状细胞; 免疫耐受; 调节性 T 细胞; 细胞因子

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81301592)

Therapeutic effects of immature dendritic cells on murine collagen-induced arthritis Yang Xiao, Peng Hao, Zhou Jianlin, Fang Hongsong, Chen Sen. Department of Orthopaedics, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430000, China

Corresponding author: Peng Hao, Email: penghao5868@163.com

【Abstract】 Objective To explore the therapeutic effects of immature dendritic cells on collagen-induced arthritis (CIA). **Methods** Murine marrow-derived monocytes were isolated and cultivated with cytokines to generate immature dendritic cells (imDCs) and with lipopolysaccharide (LPS) to generate mature dendritic cells (mDCs). The differentiation and phenotypes were confirmed with flow cytometry. Murine models of rheumatoid arthritis (RA) were established with collagen II transfusion through the caudal vein. On day 6 after first immunization, subdermal injections of imDC, mDC or PBS were administered, and the mice were divided into three groups according to the injection they had received. On day 7 a second immunization was imposed to fortify CIA. Four weeks after the first immunization the severity of CIA was evaluated using an arthritis index (AI), serum levels of IL-10 and TGF- β using ELISA, as well as regulatory T cell (Treg) populations using flow cytometry. **Results** The expression rates of CD80, CD86 and MHC-II by DCs induced with rrIL-4 and rrGM-CSF were 32.3%, 25.6% and 44.0%, and the rates by DCs induced with rrIL-4, rrGM-CSF and LPS were 91.5%, 90.9% and 94.2%, which identified the differentiation and phenotypes of the imDCs and mDCs. The average AI of the imDC group was 7.32 \pm 1.63, significantly lower than those of the mDC group (13.64 \pm 2.02) and the PBS group (12.78 \pm 1.96). The average serum concentrations of IL-10 and TGF- β in the imDC group were significantly higher than in the mDC and PBS groups. The proportion of Treg in the splenocytes of the imDC group was significantly higher than in the mDC and PBS groups. **Conclusion** CIA was markedly ameliorated by imDC, possibly through up-regulating the ex-

pression of anti-inflammatory cytokines like IL-10 and TGF- β and activating the Treg population, which could lead to immune tolerance.

【Key words】 Rheumatoid arthritis; Collagen-induced arthritis; Dendritic cells; Regulatory T cells; Immune tolerance; Cytokines

Fund program: The National Natural Science Foundation of China(81301592)

类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是一种常见的自身免疫病,以滑膜、软骨和软骨下骨的进行性破坏为特征,最终导致关节变形、僵硬、强直,致残率极高^[1]。RA 病因及发病机制尚未完全明确,国内外研究证实,滑膜组织炎性渗出,大量免疫细胞募集,各种细胞因子形成级联反应是其发病机制的核心环节^[2-3]。许多免疫细胞参与了 RA 的异常免疫过程,包括树突状细胞、单核细胞、巨噬细胞、T 淋巴细胞、B 淋巴细胞、NK 细胞等。树突状细胞(dendritic cells, DC)是迄今发现的功能最强大的专职抗原提呈细胞(antigen-presenting cells, APC)之一,是连接固有免疫和特异性免疫的桥梁,具有未成熟和成熟两种表型,对于维持机体免疫耐受与免疫应答之间的平衡至关重要^[4]。有研究发现,未成熟树突状细胞(imature dendritic cells, imDC)低表达 CD80、CD86、主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex class II, MHC-II)等协同刺激因子时,可导致激活特异性免疫应答的低能性^[1,5];同时,imDC 在克罗恩病、多发性硬化等自身免疫病的动物模型中可诱导幼稚 T 细胞(naive T cells, Tn)向调节性 T 细胞(regulatory T cells, Treg)分化,增加抗炎因子[如白细胞介素-10(interleukin-10, IL-10)、转化生长因子 β (transforming growth factor beta, TGF- β)]的表达,诱导免疫耐受,抑制炎症病变^[6]。目前,尚缺少针对 imDC 在 RA 病变中作用的随机对照研究。本研究通过建立小鼠 II 型胶原诱导性关节炎(collagen-induced arthritis, CIA)模型,模拟人类 RA 并采用 imDC 和成熟树突状细胞(mature dendritic cells, mDC)分别进行干预,旨在探究 imDC 对 CIA 的作用及其可能机制,为临床运用细胞疗法治疗或缓解 RA,提供一定的理论依据。

材料与方法

一、实验动物及主要试剂和仪器

1. 实验动物:选取 6~8 周龄、雌性 BALB/c 小鼠 40 只,无特定病原体(specific pathogen free, SPF)级,购于武汉大学动物实验中心[许可证号:SCXK(鄂)2014-0004],饲养于武汉大学人民医院动物房,其中 10 只用于获取骨髓细胞,30 只用于动物实验。

2. 主要试剂和仪器:鸡 II 型胶原(collagen type II,

C II)、完全弗氏佐剂(complete Freund's adjuvant, CFA)、冰醋酸、脂多糖(lipopolysaccharides, LPS)购于美国 Sigma 公司;重组小鼠白细胞介素 4(recombinant murine interleukin-4, rmIL-4)和重组小鼠粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(recombinant murine granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, rmGM-CSF)购于美国 PeproTech 公司;三氢-吡啶菁型染料标记的抗鼠 CD11c 单抗(PE-Cy7-anti-CD11c)、藻红蛋白标记的抗小鼠 CD80 单抗(PE-anti-CD80)、藻蓝蛋白标记的抗小鼠 CD25 单抗和 CD86 单抗(APC-anti-CD25、APC-anti-CD86)、异硫氰酸荧光素标记的 CD4 单抗和 MHC-II 单抗购于美国 BD 公司;IL-10 和 TGF- β 酶联免疫吸附法试剂盒购于 R&D 公司。FACScalibur 流式细胞仪购自美国 BD 公司,IX71 型倒置相差显微镜日本奥林巴斯公司。

二、小鼠骨髓来源 DC 的制备和鉴定

1. 细胞分离、培养:参照吴舰宇等^[7]的方法并略作改进,首先采用颈椎脱臼法处死用于获取骨髓细胞的 10 只 BALB/c 小鼠,收集骨髓单核细胞,加入含有 10% 灭活胎牛血清的洛斯维·帕克纪念研究所-1640 培养基(Roswell Park Memorial Institute 1640, RPMI1640),调整细胞密度为 1×10^6 /ml,按每孔 4 ml 接种于 6 孔培养板,每孔中添加 rmIL-4(5 ng/ml)和 rmGM-CSF(10 ng/ml),37 °C 5% CO₂ 培养箱孵育,实验第 3 天取 6 孔板中每孔悬浮培养基 2 ml,加入新 6 孔板,原 6 孔板及新 6 孔板中每孔再加入 2 ml 含 rmIL-4 和 rmGM-CSF 的新鲜培养基,放入培养箱继续孵育,实验第 7 天时所收集的悬浮和半贴壁细胞即为 imDC;同时设置对照组,采用相同的方法和试剂培养,于实验第 6 天加入 LPS(1 μ g/ml),培养 24 h 后收集,即为 mDC。

2. 细胞形态学观察:每天在倒置相差显微镜下观察细胞生长情况和形态变化。

3. DC 表型确定:收获 imDC 和 mDC 后,将细胞密度调整为 1×10^6 /ml,在 100 μ l 反应体系中分别加入三氢-吡啶菁型染料标记的抗鼠 CD11c 单抗、藻红蛋白标记的抗小鼠 CD80 单抗、藻蓝蛋白标记的抗小鼠 CD25 单抗和 CD86 单抗,避光孵育 30 min,磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS)洗涤两遍,加入 4% 多聚甲醛固定后流式细胞仪检测。

三、小鼠 CIA 造模及实验分组

将 C II 加入 0.1 mol/L 冰醋酸,在冰浴中充分搅拌溶解,配成 2 mg/ml 溶液,4 °C 冰箱放置过夜后,将 C II 溶液与 CFA 按 1:1 等体积混合,充分混匀制成乳化剂,对 30 只小鼠进行初次免疫,取 C II 乳化剂 50 μ l (含 C II 50 μ g) 对每只小鼠背部及尾根部多点皮下注射。初次免疫后第 6 天,按随机数字表法将小鼠分为 imDC 组、mDC 组和 PBS 组,每组 10 只小鼠。各组小鼠均经尾静脉输注不同干预剂,其中 imDC 组注射含 1×10^6 个 imDC 的 PBS 100 μ l; mDC 组注射含 1×10^6 个 mDC 的 PBS 100 μ l; PBS 组仅单纯注射 PBS 100 μ l。初次免疫后第 7 天,对每组小鼠再行免疫 1 次(加强免疫),所用药剂和剂量同初次免疫。

四、CIA 检测指标及方法

关节炎指数(arthritic index, AI):于加强免疫当天即对 2 组小鼠进行 AI 检测,以后每隔 7 d 检测 1 次,共检测 4 次(共用时 3 周),检测方法采用 0~4 级评分法,0 分为无红肿,无炎症反应;1 分为趾关节轻度肿胀;2 分为趾关节及足跖肿胀;3 分为踝关节以下足爪肿胀;4 分为包括踝关节在内全部足爪肿胀^[8]。

五、免疫抑制性指标检测

1. 抗炎因子检测:采用酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)法进行抗炎因子检测。于加强免疫后第 21 天在每只小鼠眼眶取血 0.8~1.0 ml,全血 37 °C 恒温箱静置 1 h 后,放入离心管,离心半径 8 cm,2000 r/min 离心 15 min,吸取上清,按照 ELISA 试剂盒说明检测小鼠 IL-10 和 TGF- β 浓度。

2. Treg 细胞检测:于加强免疫后第 21 天处死 3 组小鼠,取其脾脏组织在冰浴下制备细胞悬液,裂解红细胞, PBS 洗涤后加入异硫氰酸荧光素标记的 CD4 单抗和藻蓝蛋白标记的抗小鼠 CD25 单抗,4 °C 避光孵育 30 min, PBS 洗涤 2 遍,加 4% 多聚甲醛固定,然后置于 FACSscalibur 流式细胞仪进行检测。

六、统计学处理

采用 SPSS 19.0 版统计学软件对数据进行分析,计量数据以($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用 *t* 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

一、DC 形态学观察

细胞培养 24 h 后,可见大量单核细胞贴壁生长,细胞聚集为均匀分布的集落,胞体小而不规则;细胞培养第 3~4 天,可见大量集落形成,大多数细胞仍贴壁,少量细胞悬浮,胞体出现细小突起的伪足;细胞培养第 6~7 天,可见贴壁细胞集落明显减少,悬浮细胞增多,胞体增大,胞浆透亮,胞核清楚,细胞突起粗大,呈树枝

样,即典型 DC 特点^[9](图 1)。

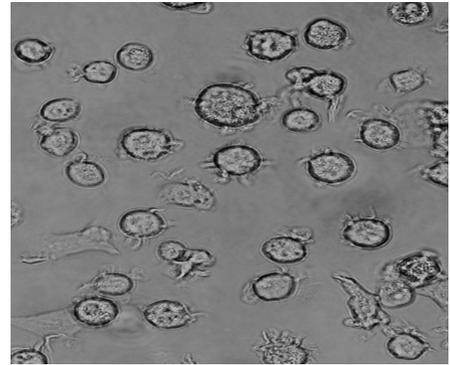


图 1 细胞培养第 7 天树突状细胞形态($\times 400$)

二、DC 表型确定

细胞培养第 6~7 天,经流式细胞仪检测,2 种 DC 细胞 CD11c 的表达率均为 87.4%; imDC 细胞 CD80、CD86、MHC- II 表达率分别为 32.3%、25.6%、44.0%, mDC 细胞 CD80、CD86、MHC- II 表达率分别为 91.5%、90.9%、94.2%,证明 imDC 和 mDC 诱导分化成功(图 2)^[9-10]。

三、AI 评估

初次免疫后,3 组小鼠四只足爪均出现轻度肿胀,局限于趾间关节,无畸形或强直;加强免疫后第 1 天(初次免疫后第 7 天),imDC 组和 PBS 组肿胀加重,累及踝关节,而部分小鼠开始逐渐减轻,至加强免疫后第 21 天,imDC 组小鼠 AI 值为(7.32 ± 1.63)分,显著优于同时时间点的 mDC 组[(13.64 ± 2.02)分]和 PBS 组[(12.78 ± 1.96)分],差异均有统计学意义($P < 0.01$),详见表 1。

四、抗炎细胞因子测定

加强免疫后第 21 天,经 ELISA 检测,imDC 组 CIA 小鼠血清 IL-10 和 TGF- β 均显著高于同时时间点的 mDC 组和 PBS 组,差异均有统计学意义($P < 0.01$),详见表 1。

表 1 加强免疫后第 21 天 3 组小鼠 AI 值、细胞因子浓度及 Treg 检测结果比较($\bar{x} \pm s$)

组别	只数	AI 值(分)	IL-10 (pg/ml)	TGF- β (pg/ml)	Treg 检测 (%)
imDC 组	10	7.32 ± 1.63	11.68 ± 2.04	26.93 ± 4.32	4.52 ± 1.23
mDC 组	10	13.64 ± 2.02^a	4.32 ± 1.75^a	12.15 ± 2.67^a	3.09 ± 0.96^a
PBS 组	10	12.78 ± 1.96^a	5.03 ± 1.58^a	13.10 ± 2.52^a	3.12 ± 0.89^a

注:与 imDC 组比较,^a $P < 0.01$

五、Treg 检测

加强免疫后第 21 天,经流式细胞仪检测,imDC 组小鼠的脾脏 CD4⁺CD25⁺Treg 比例显著高于同时时间点的 mDC 组和 PBS 组,差异均有统计学意义($P < 0.01$),详见表 1 和图 3。

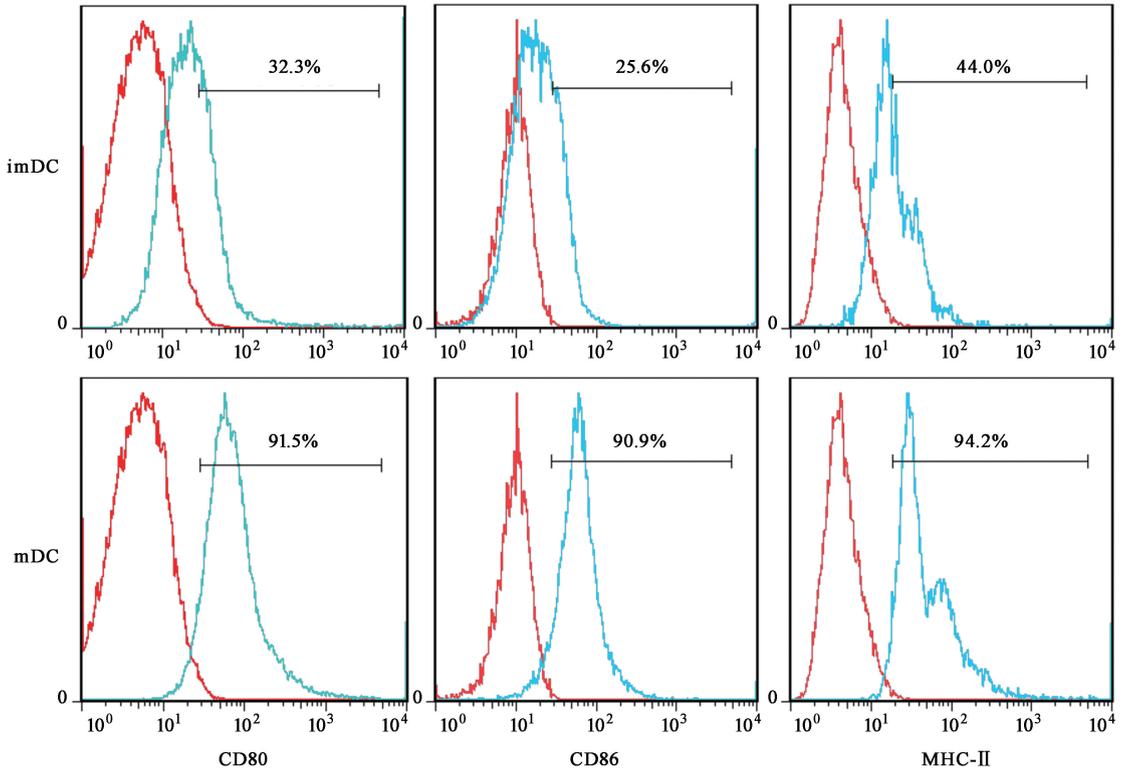


图 2 2 种 DC 细胞表型的流式细胞检测

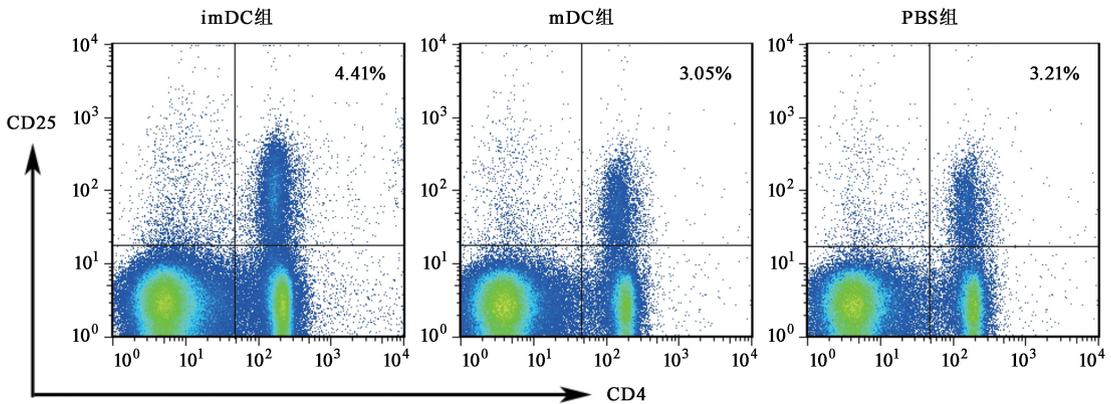


图 3 流式细胞仪检测脾脏 CD4⁺CD25⁺Treg 比例

讨 论

RA 是以多关节受累为主要表现的慢性自身免疫病,滑膜组织通过自分泌和旁分泌产生大量细胞因子,募集免疫细胞,激活自身免疫反应^[11]。Tn 受到炎症因子诱导,分化为 Th1、Th2 和 Th17,其中 Th17 在介导自身免疫性炎症的过程中,发挥关键作用。各种炎症细胞因子与免疫细胞互相激活,形成级联式网络反应,导致 RA 病情不断进展,迁延不愈^[12]。传统治疗 RA 的药物包括糖皮质激素、细胞毒药物、非甾体抗炎药 (non-steroidal anti-inflammatory drugs, NSAIDs)、缓解病情抗风湿药 (disease-modifying anti-rheumatic drugs, DMARDs) 等药物,以及近年来广泛使用的生物制剂,

而被列为研究热点的受体或信号通路阻滞剂,也正在积极向临床应用转化^[13]。

DC 作为最重要的 APC,具有未成熟和成熟两种表型,分别介导免疫耐受和免疫应答,对于机体免疫稳态的维持至关重要^[4]。imDC 已在诸多自身免疫病的动物模型中,被证明可诱导免疫耐受,缓解炎症病变,是蕴含巨大应用价值的细胞疗法^[14-16]。作为公认理想的 RA 动物模型,小鼠 CIA 成功模拟了 RA 的病理生理特点和免疫学微环境,为探究 imDC 治疗作用提供必需条件。本研究结果证实,小鼠骨髓来源的单核细胞经诱导分化为 imDC 后,低表达 CD80、CD86 及 MHC-II 等协同刺激因子,这种细胞表型不能有效地激活特异性免疫反应,导致以 Th17 为代表的淋巴细胞应答无

能^[17]。本研究中, CIA 小鼠加强免疫后, mDC 组和 PBS 组足爪病理改变均较 imDC 组严重, 说明 imDC 在同源小鼠体内确实能有效遏制关节炎进展。相关文献报道, imDC 进入机体后可刺激抗炎细胞因子 IL-10 和 TGF- β 表达增加, 拮抗炎症因子的作用, 减轻组织病变^[15], 而本研究采用 ELISA 法测小鼠血清 IL-10 和 TGF- β 浓度, 加强免疫后第 21 天, imDC 组 CIA 小鼠血清 IL-10 和 TGF- β 均显著高于同时时间点的 mDC 组和 PBS 组, 差异均有统计学意义 ($P < 0.01$), 其结果正好证实了以上文献的结论。关于抗炎介质表达增加的途径, 许多免疫学家认为是 imDC 激活 Treg 细胞群, 触发了强大的免疫耐受效应^[18]。Treg 是特异性免疫的负性调节因素, 在炎症反应过于强烈或攻击自身组织时, 可由相关因子刺激 Tn 分化生成; 有研究证明, imDC 在这一转化过程中发挥重要作用, 被激活的 Treg 可大量分泌 IL-10 和 TGF- β , 实现免疫耐受和抗炎效果^[19]。本研究以流式细胞技术检测小鼠脾脏细胞中 CD4⁺CD25⁺Treg 细胞比例, 结果显示, 加强免疫后第 21 天, imDC 组的 Treg 细胞比例明显高于 mDC 组和 PBS 组, 充分说明 imDC 诱导免疫耐受的途径, 很可能是刺激 Treg 细胞群增殖所致。

综上所述, 本研究证实了 imDC 对 CIA 的治疗效果, 并揭示其作用机制很可能是通过刺激 Treg 增殖, 上调 IL-10 和 TGF- β 分泌, 从而实现自身免疫耐受, 该结果可为 RA 的细胞治疗提供理论支持。

参 考 文 献

- [1] Alghasham A, Rasheed Z. Therapeutic targets for rheumatoid arthritis: Progress and promises[J]. *Autoimmunity*, 2014, 47(2):77-94. DOI: 10.3109/08916934.2013.873413.
- [2] 郑毅, 陆江阳, 尹义存, 等. 类风湿关节炎患者滑膜树突状细胞的研究[J]. *中华风湿病学杂志*, 2003, 7(1):22-25. DOI:10.3760/j.issn:1007-7480.2003.01.007.
- [3] Diogo D, Okada Y, Plenge RM. Genome-wide association studies to advance our understanding of critical cell types and pathways in rheumatoid arthritis: recent findings and challenges[J]. *Curr Opin Rheumatol*, 2014, 26(1):85-92. DOI:10.1097/BOR.000000000000012.
- [4] Chen M, Wang YH, Wang Y, Huang L, et al. Dendritic cell apoptosis in the maintenance of immune tolerance [J]. *Science*, 2006, 311(5764):1160-1164. DOI:10.1126/science.1122545.
- [5] Zhao Y, Zhang A, Du H, et al. Tolerogenic dendritic cells and rheumatoid arthritis: current status and perspectives[J]. *Rheumatol Int*, 2012, 32(4):837-844. DOI:10.1007/s00296-011-2133-2.
- [6] Flores-Borja F, Mauri C, Ehrenstein MR. Restoring the balance: harnessing regulatory T cells for therapy in rheumatoid arthritis[J]. *Eur J*

- Immunol*, 2008, 38(4):934-937. DOI:10.1002/eji.200738107.
- [7] 吴舰宇, 宋春芳, 许评, 等. 应用骨髓法培养树突状细胞的研究[J]. *中华实验外科杂志*, 2005, 22(7):796-797. DOI:10.3760/j.issn:1001-9030.2005.07.011.
- [8] 张玲玲, 沈玉先, 魏伟. 类风湿关节炎动物模型与临床的关系[J]. *中国药理学通报*, 2002, 18(5):502-506. DOI:10.3321/j.issn:1001-1978.2002.05.006.
- [9] Schinnerling K, Soto L, Garcia-Gonzalez P, et al. Skewing dendritic cell differentiation towards a tolerogenic state for recovery of tolerance in rheumatoid arthritis[J]. *Autoimmun Rev*, 2015, 14(6):517-527. DOI:10.1016/j.autrev.2015.01.014.
- [10] Zhang L, Fu J, Sheng K, et al. Bone marrow CD11b(+)F4/80(+) dendritic cells ameliorate collagen-induced arthritis through modulating the balance between Treg and Th17[J]. *Int Immunopharmacol*, 2015, 25(1):96-105. DOI:10.1016/j.intimp.2015.01.014.
- [11] Viatte S, Plant D, Raychaudhuri S. Genetics and epigenetics of rheumatoid arthritis[J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2013, 9(3):141-153. DOI:10.1038/nrrheum.2012.237.
- [12] Burmester GR, Feist E, Dörner T. Emerging cell and cytokine targets in rheumatoid arthritis[J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2014, 10(2):77-88. DOI:10.1038/nrrheum.2013.168.
- [13] 罗文丰, 周京国, 罗雄燕, 等. 高压氧结合锝-亚甲基二膦酸盐治疗类风湿性关节炎合并早期股骨头缺血性坏死[J]. *中华物理医学与康复杂志*, 2009, 31(5):330-331. DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2009.05.014.
- [14] Gao XW, Fu Y, Li WJ, et al. Mechanism of immune tolerance induced by donor derived immature dendritic cells in rat high-risk corneal transplantation[J]. *Int J Ophthalmol*, 2013, 18, 6(3):269-275. DOI:10.3980/j.issn.2222-3959.2013.03.03.
- [15] Chen L, Zheng L, He W, et al. Cotransfection with IL-10 and TGF- β into immature dendritic cells enhances immune tolerance in a rat liver transplantation model[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2014, 306(7):575-581. DOI:10.1152/ajpgi.00283.2013.
- [16] Zhang A, Fu J, Ning B, et al. Tolerogenic dendritic cells generated with IL-10/TGF β 1 relieve immune thrombocytopenia in mice [J]. *Thromb Res*, 2013, 132(1):63-68. DOI:10.1016/j.thromres.2013.04.001.
- [17] Torres-Aguilar H, Aguilar-Ruiz SR, Gonzalez-Perez G, et al. Tolerogenic dendritic cells generated with different immunosuppressive cytokines induce antigenspecific anergy and regulatory properties in memory CD4⁺ T cells[J]. *J Immunol*, 2010, 184(4):1765-1775. DOI:10.4049/jimmunol.0902133.
- [18] Leavy O. Regulatory T cells: Young AIREs go on to rule[J]. *Nat Rev Immunol*, 2015, 15(5):269-271. DOI:10.1038/nri3849.
- [19] Ko HJ, Cho ML, Lee SY, et al. CTLA4-Ig modifies dendritic cells from mice with collagen-induced arthritis to increase the CD4+CD25+ Foxp3+ regulatory T cell population[J]. *J Autoimmun*, 2010, 34(2):111-120. DOI:10.1016/j.jaut.2009.07.006.

(修回日期:2016-09-03)

(本文编辑:阮仕衡)