

沉默脂联素受体 1 对脂多糖诱导的类风湿关节炎滑膜成纤维细胞 MH7A 增殖凋亡的影响

王娅妮,赵鹏飞,谈文峰,张缪佳*

(南京医科大学第一附属医院风湿免疫科,江苏 南京 210029)

[摘要]目的:观察脂联素受体 1(adiponectin receptor1, AdipoR1)沉默对脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)诱导的人类类风湿关节炎滑膜成纤维细胞(MH7A)增殖、凋亡的影响。方法:①利用免疫荧光、Western blot 鉴定并验证 shRNA 技术对构建的 AdipoR1 沉默 MH7A(sh-AdipoR1 组)细胞的干扰效率;②分别用 CCK8 试剂盒、流式细胞仪检测 LPS(100 ng/mL)对 sh-AdipoR1 组及空载病毒对照(sh-NC 组)细胞增殖及凋亡的影响;③利用实时定量聚合酶链反应法(real-time polymerase chain reaction, real-time PCR)检测 LPS 对 sh-AdipoR1 及 sh-NC 组细胞中凋亡相关基因 BCL-2、BCL-XL、BAX、BAK 表达的影响。同时设置无 LPS 刺激的 sh-NC、sh-AdipoR1 组作为对照。结果:①荧光显微镜下可见 sh-AdipoR1 组细胞荧光蛋白表达效率趋近于 100%, Western blot 检测结果显示:与 sh-NC 组相比,sh-AdipoR1 组 AdipoR1 蛋白的表达显著下降($P<0.05$),表明 AdipoR1 沉默的细胞构建成功;②无 LPS 刺激情况下,sh-NC 组与 sh-AdipoR1 组细胞增殖速率及凋亡细胞比例无明显差异;LPS 刺激可显著增加 sh-NC 组和 sh-AdipoR1 组细胞相对增殖速率及凋亡细胞比例($P<0.05$);在 LPS 作用 24、48 h,sh-AdipoR1 组细胞增殖速率均显著低于 sh-NC 组($P<0.05$),而 sh-AdipoR1 组细胞凋亡率显著高于 sh-NC 组($P<0.05$);③real-time PCR 结果显示,无 LPS 刺激情况下,sh-NC 组与 sh-AdipoR1 组抑制凋亡基因 BCL-2、BCL-XL 与促进凋亡基因 BAX、BAK 的相对表达量均无显著差异 ($P>0.05$);LPS 刺激可降低抑制凋亡基因 BCL-2、BCL-XL 表达,增加促凋亡基因 BAX、BAK 表达($P<0.05$);在 LPS 诱导下与 sh-NC 组相比,sh-AdipoR1 组抑制凋亡基因 BCL-2、BCL-XL 表达下降,促凋亡基因 BAX、BAK 表达显著升高 ($P<0.05$)。结论:AdipoR1 基因的沉默可抑制 LPS 诱导的 MH7A 细胞增殖,促进细胞凋亡,并提示 AdipoR1 相关信号通路可能在类风湿关节炎发生发展中起到重要作用,阻断该途径可有效阻断 LPS 诱导的 MH7A 细胞炎症反应。

[关键词] 脂联素受体 1;类风湿关节炎;滑膜成纤维细胞;细胞增殖;细胞凋亡

[中图分类号] R593.22

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2017)09-1109-05

doi:10.7655/NYDXBNS20170908

Effects of adiponectin receptor 1 knockdown on the proliferation and apoptosis of MH7A induced by lipopolysaccharide

Wang Ya'ni, Zhao Pengfei, Tan Wenfeng, Zhang Miaojia *

(Department of Rheumatology, the First Affiliated Hospital of NJMU, Nanjing 210029, China)

[Abstract] Objective: To explore the effects of adiponectin receptor 1(AdipoR1) knockdown on the proliferation and apoptosis of human rheumatoid arthritis synovial fibroblast cell line(MH7A) induced by lipopolysaccharide(LPS). **Methods:** ①The interference efficiency of AdipoR1 silenced (sh-AdipoR1) MH7A cells was identified by immunofluorescence and Western blot techniques. ②The effects of LPS(100 ng/mL) on the proliferation and apoptosis of sh-AdipoR1 and sh-NC cells were detected by CCK8 kit and flow cytometry, respectively. ③ Besides, the expression levels of apoptosis associated genes: BCL-2, BCL-XL, BAX and BAK in sh-AdipoR1 and sh-NC cell lines stimulated by LPS, were detected by real-time polymerase chain reaction(real-time PCR) experiment. Groups of sh-NC and sh-AdipoR1 without LPS stimulation were set as controls. **Results:** ①The expression of fluorescent protein in MH7A cells transfected with lentivirus was nearly 100%, detected by fluorescence microscope. Moreover, the expression of AdipoR1 protein in sh-AdipoR1 group was significantly lower than that in sh-NC group($P<0.05$), indicating that AdipoR1 silenced cells were successfully constructed. ②The cell proliferation rate and apoptotic cell rate of sh-AdipoR1 group had no obvious difference compared to sh-NC group without LPS stimulation. The cell proliferation rate of both sh-NC and sh-AdipoR1 groups increased after

[基金项目] 国家自然科学基金(81671615);重点病种规范化诊疗研究(BL20130134);江苏省科技厅基础研究计划(BK2012875)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: mjzhang@njmu.edu.cn

24 and 48 hours LPS stimulation, and apoptotic cell rate of sh-NC and sh-AdipoR1 groups significantly increased after 48 hours LPS stimulation ($P < 0.05$). The cell proliferation rate of sh-AdipoR1 group was significantly lower than that of sh-NC group after LPS stimulation for 24 and 48 hours ($P < 0.05$). And the apoptotic cell rate of sh-AdipoR1 group was significantly higher than that of sh-AdipoR1 group after LPS stimulation for 48 hours ($P < 0.05$). ③The mRNA expression levels of BCL-2 and BCL-XL of sh-AdipoR1 group had no significant difference compared to the sh-NC group without LPS stimulation. Neither did BAK and BAX mRNA expression levels. After LPS stimulation, BCL-2 and BCL-XL mRNA expression levels of both sh-NC and sh-AdipoR1 groups reduced, while BAK and BAX elevated ($P < 0.05$). Compared with those in sh-NC group, the mRNA expression levels of BCL-2 and BCL-XL were significantly decreased while BAX and BAK were significantly increased in the sh-AdipoR1 group with LPS stimulation ($P < 0.05$).

Conclusion: Our research found that down-regulation of AdipoR1 gene could significantly inhibit the proliferation and promote the apoptosis of MH7A cells under LPS exposure. It indicates that adiponectin receptor-1 related signaling pathways may play a role in rheumatoid arthritis.

[Key words] adiponectin receptor 1; rheumatoid arthritis; synovial fibroblasts; cell proliferation; cell apoptosis

[Acta Univ Med Nanjing, 2017, 37(09):1109-1113, 1153]

类风湿关节炎^[1](rheumatoid arthritis, RA)是主要侵犯滑膜关节的慢性系统性自身免疫性疾病,表现为对称性周围性多关节炎,常累及手足小关节,最终可发展为关节破坏和功能残疾。成纤维样滑膜细胞是 RA 的主要效应细胞,在 RA 中表现为增殖异常,导致滑膜增生,参与炎症与骨侵蚀的发生发展。受累关节成纤维样滑膜细胞的异常增殖是 RA 区别于其他关节炎的特征性改变^[2]。RA 的发病机制仍不完全清楚,目前临床一线用药主要为糖皮质激素、改善病情抗风湿药(disease-modifying anti-rheumatic drugs, DMARDs)、生物制剂、小分子药物等^[3];但这些治疗手段依然仅能改善临床症状,并不能阻止慢性炎症与骨侵蚀的发展,无法达到持续的临床缓解。近年有报道发现,脂联素作为血浆中含量最多的一种脂肪因子,影响包括滑膜、软骨、骨和免疫细胞在内的多种细胞与组织^[4],提示其在 RA 滑膜炎、软骨破坏与骨侵蚀过程中发挥重要作用。本课题组前期研究发现脂联素能影响成纤维样滑膜细胞侵袭及凋亡特性、促进金属蛋白酶和核因子 κ B 受体活化因子配体表达以及影响 B 细胞分化等多种功能^[6]。脂联素及其相关的信号通路在 RA 炎症过程中发挥了重要作用。前期研究业已证实脂联素受体 1(adiponectin receptor 1, AdipoR1)是脂联素在人和小鼠关节腔局部发挥生物学效应的主要作用靶点^[5-6],因此本研究利用 shRNA 技术特异性地在细胞水平干预 AdipoR1 表达后,观察 LPS 诱导的增殖和促凋亡反应,以寻找 RA 新的治疗靶点。

1 材料和方法

1.1 材料

人滑膜成纤维细胞系 MH7A,由美国加州大学

洛杉矶分校 David Yu 教授馈赠,此细胞系是由 RA 患者原代滑膜成纤维细胞经 SV40T 抗原基因转染而成的永生化细胞系。RPMI1640 培养基(Gibco 公司,美国),10%胎牛血清(Gibco 公司,美国),CCK-8 试剂盒(同仁公司,日本),TRIzol(Invitrogen 公司,美国),SYBR@Select Master Mix 定量试剂盒(Life 公司,美国),AdipoR1 抗体(ab126611, Abcamgongs 公司,美国),ECL 显色剂(Pierce 公司,美国)。定量 PCR 仪(Prism 7900HT 型,ABI 公司,美国),凝胶图像分析系统(Bio-Rad 公司,美国)。

1.2 方法

1.2.1 shRNA-AdipoR1 慢病毒载体的构建

搜索 Genebank 数据库中人类基因 AdipoR1 序列,按照设计的 3 组干扰序列(表 1),并利用美国国立生物技术信息中心基因数据库(NCBI)中的 Blast 功能验证其特异性,由上海吉凯公司按 U6-MCS-Ubi(-EGFP)元件顺序成功构建 shRNA-AdipoR1 慢病毒(图 1)。

1.2.2 shRNA-AdipoR1 慢病毒感染 MH7A 细胞

MH7A 细胞接种于含 10%胎牛血清、100 U/mL 的青霉素和链霉素的 RPMI1640 培养液中,每 2 d 更换新鲜培养基。待细胞 80% 融合后,用含 0.25% 胰蛋白酶和 0.02% EDTA 的消化液消化,按 1:3 传代。待传代后约 6 h,细胞(30%~50%密度)已完全贴壁,按预实验所筛选的感染复数(MOI),病毒:细胞=10:1,分别于 48、72、96 h 后,以荧光显微镜观察细胞荧光蛋白表达效率以验证慢病毒感染效率。

1.2.3 Western blot 检测 AdipoR1 相对表达量

以 RIPA 裂解液收取慢病毒感染后长满的细胞总蛋白,校正蛋白浓度后,按每孔 10 μ g 蛋白量加样进行 SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳;样品依次进入浓缩

表 1 3 种 sh-AdipoR1 引物序列
Table 1 Sequences of shRNA targeting to AdipoR1

名称	5'	STEM	Loop	STEM	3'
sh-AdipoR1-1	T	ggGATTGCTCTACTGATTATG	CTCGAG CATAATCAGTAGAGCAATCCC	TTTTTTC	TTTTTTC
sh-AdipoR1-2	T	ggCCTTTATGCTGCTCGAATT	CTCGAG AATTCGAGCAGCATAAAGGCC	TTTTTTC	TTTTTTC
sh-AdipoR1-3	T	tgGCTCTTTCACACCGTCTAT	CTCGAG ATAGACGGTGTGAAAGAGCCA	TTTTTTC	TTTTTTC
sh-NC		TTCTCCGAACGTGTACGT(无义序列)			

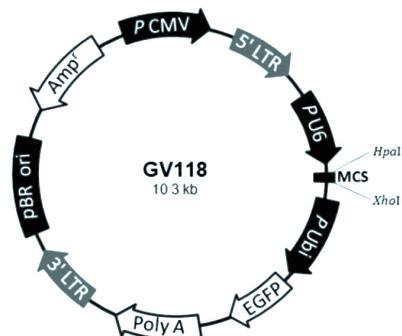


图 1 shRNA-AdipoR1 慢病毒载体图谱

Figure 1 Lentiviral vector map of shRNA-AdipoR1

胶和分离胶,恒流 200 mA 电泳约 1 h。在转移电泳仪中将胶中蛋白转移至 PVDF 膜上,5% BSA 封闭液 37 °C 封闭 1 h。按 1:1 000 AdipoR1 单克隆抗体、1:5 000 GAPDH 抗体,4 °C 过夜, TBST 洗膜 3 次×10 min,加入辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔(1:5 000)抗体,室温孵育 60 min 后, TBST 洗膜 3 次×10 min;加入 ECL 显色剂。用凝胶图像分析系统对条带进行灰度分析,以 AdipoR1/GAPDH 光密度比值作为 AdipoR1 蛋白的相对表达量;各组实验至少重复 3 次。

1.2.4 CCK8 法检测细胞相对增殖速率

根据预实验筛选的 MH7A 细胞密度,按 5 000 个/孔接种 96 孔板,待细胞完全贴壁后,记为 0 h,加 10 μL/孔检测液,孵育 1 h 后,以酶标仪检测其吸光度值,并换含 100 ng/mL LPS 的正常培养基,分别于 12、24、48 h 测定其吸光度值,计算相对增殖速率,以无 LPS 刺激组作为对照,检测步骤严格按照日本同仁公司提供的说明书操作。

1.2.5 流式细胞术检测 MH7A 细胞凋亡

以不含 EGFP 表达元件的 AdipoR1 和对照 shRNA 慢病毒感染 MH7A 细胞后,加 LPS(100 ng/mL)刺激 48 h 后,以 Annexin V/PI 双染色法检测细胞凋亡比例,严格按照 Life Technologies 公司说明书步骤操作。

1.2.6 实时荧光定量 PCR 检测凋亡相关基因

搜索 Genebank 数据库中人类基因 BAK、BAX、

BCL-2、BCL-XL、GAPDH 的序列,并设计 PCR 引物,PCR 引物由南京锐博公司合成(表 2)。按 SYBR@Select Master Mix 试剂盒进行 real-time PCR,反应体系为 5 μL,于 384 孔板中进行。反应条件:95 °C 预变性 10 min;95 °C 变性 15 s,60 °C 退火 1 min,40 个循环,熔解曲线分析。结果采用 2^{-ΔΔCt} 理论值进行计算,每个样品设置 3 个复孔。

表 2 凋亡相关基因引物序列
Table 2 Sequences of PCR primers

名称	引物序列(5'→3')
BAK	上游 GAGCCCATTCCCACCATTTCTACCT
	下游 AGAGAGGAAGGGAGAGAACTGAGAGGAC
BAX	上游 GGGAGACACCTGAGCTGACC
	下游 GGACTCCAGCCACAAAAGATGG
BCL-2	上游 GAACTGGGGGAGGATTGTGGCC
	下游 TCGACGTTTTTGCTGAAGACTGTAA
BCL-XL	上游 AGGGAGGCAGGCGACGAGTTT
	下游 TGAAGAGTGAGCCCAGCAGAACCA
GAPDH	上游 TGTGGGCATCAATGGATTGCG
	下游 ACACCATGTATTCCGGGTCAAT

1.3 统计学方法

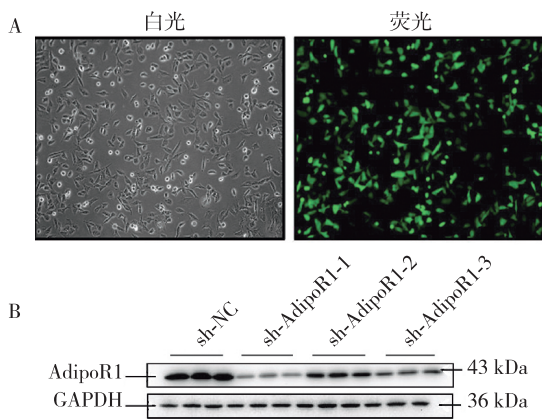
采用 SPSS 19.0 进行统计分析,经正态性检验和方差齐性分析后,两样本之间的比较选择 *t* 检验,多个样本间比较选择单因素方差分析,*P*≤0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 AdipoR1 沉默效率的验证

以 1×10⁸ TU/mL 的重组慢病毒载体感染 MH7A 细胞,MOI=10 时,几乎所有的 GFP 慢病毒载体感染组细胞均表达绿色荧光蛋白(图 2A),Western blot 实验检测发现,对照 sh-NC 对 AdipoR1 表达基本无影响,sh-AdipoR1-1 组、sh-AdipoR1-3 组 AdipoR1 蛋白表达量显著低于 sh-NC 组(*P*<0.05,图 2B)。

经验证,sh-AdipoR1-1 干扰效率最佳(图 2B),sh-AdipoR1-1 组、sh-AdipoR1-3 组实验结果一致;后续实验均以 sh-AdipoR1-1 进行。



A: 荧光显微镜下, 比较荧光视野和白视野可发现几乎所有感染组细胞均表达绿色荧光蛋白 ($\times 100$); B: Western blot 实验检测 sh-NC 组与 sh-AdipoR1-1 组、sh-AdipoR1-2 组、sh-AdipoR1-3 组 AdipoR1 及 GAPDH 蛋白的表达量。

图 2 AdipoR1 沉默效率的验证

Figure 2 Verification of AdipoR1 knockdown

2.2 沉默 AdipoR1 对 LPS 所诱导的 MH7A 细胞增殖与凋亡的影响

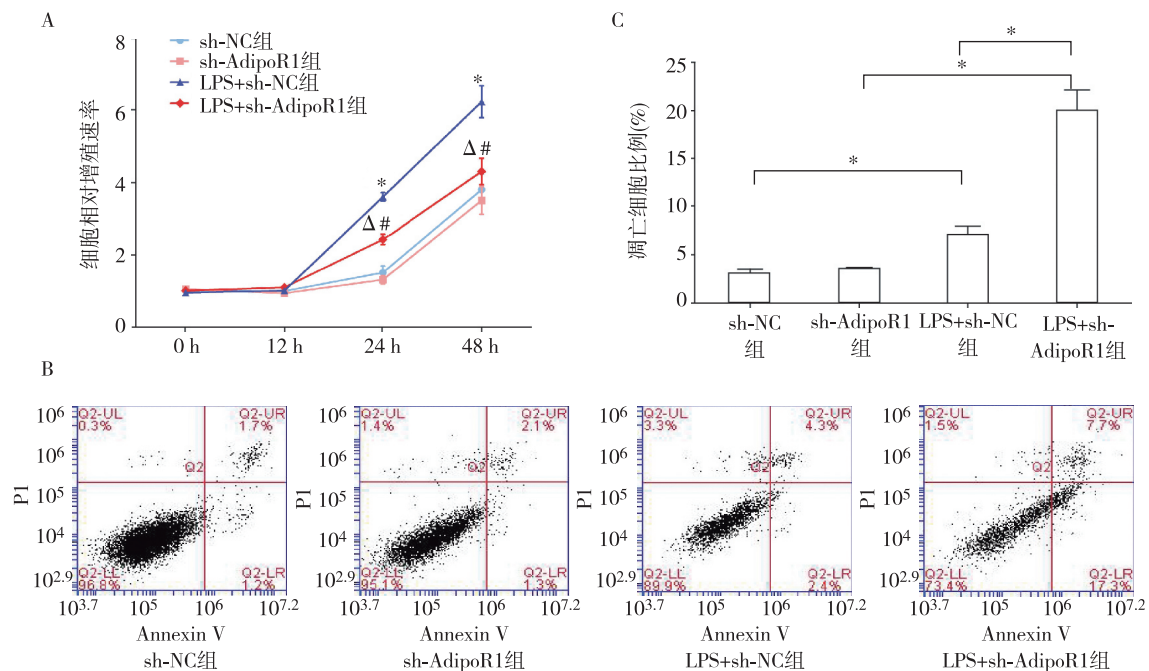
无 LPS 刺激情况下, sh-NC 组与 sh-AdipoR1 组细胞相对增殖速率无明显差异。LPS 刺激 24 h、48 h 后, sh-NC 组和 sh-AdipoR1 组细胞相对增殖速率增

加。LPS 刺激 24 h、48 h, LPS+sh-AdipoR1 组细胞相对增殖速率显著低于 LPS+sh-NC 组(图 3A)。以上结果提示 AdipoR1 沉默可有效降低 LPS 诱导的 MH7A 细胞增殖。

未用 LPS 刺激的 sh-NC 组细胞有 2.9% 发生凋亡, sh-AdipoR1 组细胞有 3.4% 发生凋亡; LPS 刺激后的 LPS+sh-NC 组凋亡期细胞比例为 6.7%, LPS+sh-AdipoR1 组凋亡期细胞比例为 25.0% (图 3B)。统计发现, 未用 LPS 刺激时, sh-NC 组与 sh-AdipoR1 组凋亡细胞比例无明显差异。LPS 刺激可促进 sh-NC 组和 sh-AdipoR1 组细胞凋亡。LPS 处理后, 即 LPS+sh-AdipoR1 组细胞凋亡比例显著高于 LPS+sh-NC 组 ($P < 0.05$, 图 3C)。以上结果提示 AdipoR1 沉默可显著促进 LPS 诱导的 MH7A 细胞凋亡。

2.3 沉默 AdipoR1 对 LPS 诱导凋亡相关基因的影响

在无 LPS 刺激情况下, sh-NC 组与 sh-AdipoR1 组 BCL-2 与 BCL-XL、BAK 与 BAX 的相对表达量无明显差异。与无 LPS 的 sh-NC 组、sh-AdipoR1 组相比, LPS+sh-NC、LPS+sh-AdipoR1 组 BCL-2、BCL-XL 的相对表达量降低, BAK、BAX 的相对表达量均增高; LPS 刺激下, LPS+sh-AdipoR1 组 BCL-2、BCL-XL 的

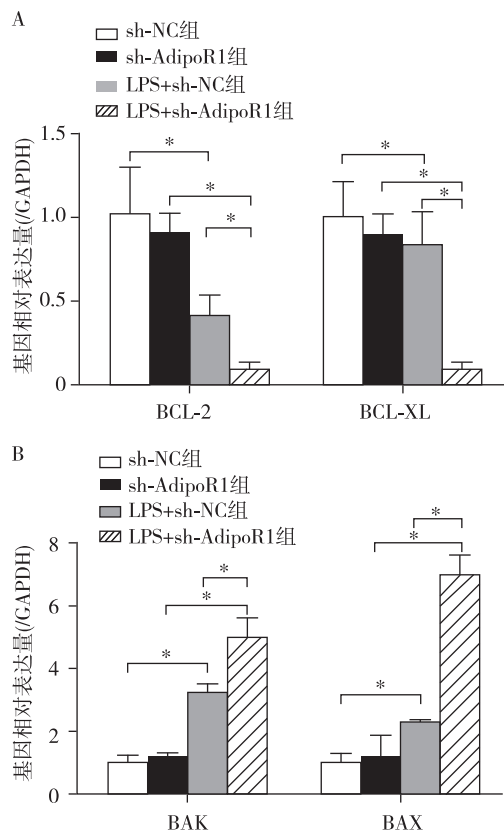


A: CCK8 实验检测细胞增殖, sh-NC 组与 sh-AdipoR1 组细胞相对增殖速率无明显差异, 24 h、48 h 时间点 LPS+sh-NC 组细胞增殖速率高于 sh-NC 组 (与 sh-NC 组比较, $^*P < 0.05$), LPS+sh-AdipoR1 组细胞增殖速率高于 sh-AdipoR1 组 (与 sh-AdipoR1 组比较, $^*P < 0.05$), LPS+sh-AdipoR1 组细胞增殖率显著低于 LPS+sh-NC 组 (与 LPS+sh-NC 组比较, $^{\Delta}P < 0.05$); B、C: 流式细胞仪检测细胞凋亡, sh-NC 组与 sh-AdipoR1 组凋亡细胞比例无明显差异, LPS+sh-NC 组凋亡细胞比例高于 sh-NC 组, LPS+sh-AdipoR1 组凋亡细胞比例高于 sh-AdipoR1 组, LPS+sh-AdipoR1 组凋亡细胞比例显著高于 LPS+sh-NC 组。两组比较, $^*P < 0.05$ $n=6$ 。

图 3 LPS 诱导的 sh-NC 组与 sh-AdipoR1 组细胞增殖与凋亡比较

Figure 3 Comparison of LPS-induced cell proliferation and apoptosis between sh-NC and sh-AdipoR1 group

相对表达量均低于 LPS+sh-NC 组,BAK、BAX 的相对表达量均高于 LPS+sh-NC 组(图 4)。提示 AdipoR1 沉默可促进 LPS 诱导下的细胞凋亡。



A: 各组 BCL-2、BCL-XL mRNA 相对表达量; B: 各组 BAK、BAX mRNA 相对表达量; 两组比较, * $P < 0.05$ ($n=6$)。

图 4 LPS 诱导下 sh-NC 组与 sh-AdipoR1 组凋亡相关基因相对表达量比较

Figure 4 Comparison of LPS-induced relative expression of apoptosis-related genes between group sh-NC and sh-AdipoR1

3 讨论

以往研究发现, RA 滑膜组织中脂联素含量、AdipoR1 基因及蛋白表达均增加, RA 患者外周血中 AdipoR1 表达亦增高^[6-7]; 在滑膜成纤维细胞以及人体中, 脂联素能诱导 MMP-1、IL-6 和 IL-8 的合成^[8], 促进炎症产生和基质降解, 表现出促炎因子的作用, 但因 RA 发病机制尚不清楚, 关节腔内脂联素可能存在多种来源^[9], 如外周血、关节内的脂肪细胞等, 阻断脂联素的产生显得尤为困难, 并且在关节外的大部分研究中, 脂联素具有抗炎、抗增殖作用, 不宜在全身水平减少脂联素的产生^[10]。而滑膜成纤维细胞在 RA 发病过程中起重要作用^[11-12], 因为在异常免疫信号的刺激下, 它可以分泌大量炎症因子, 是关节腔内局部炎症因子的主要来源。因此本研究利用

shRNA 技术在 MH7A 细胞水平沉默 AdipoR1, 可以有效阻断 LPS 所诱导的细胞异常增殖效应、促进细胞凋亡。

滑膜成纤维细胞增殖与凋亡异常可导致滑膜组织过度增生、肥厚, 导致其形成增生浸润性的细胞团或关节翳、侵蚀周围组织和骨。炎症因子释放引起的趋化反应则进一步导致关节的 T 淋巴细胞、单核细胞、A 型(巨噬细胞样)和 B 型(如成纤维细胞)滑膜细胞局部浸润引起并维持滑膜炎。近年来, 临床试验表明用抗肿瘤坏死因子类药物治疗类风湿性关节炎, 能显著改善临床症状、延迟骨侵蚀发生^[13-15]。炎症环境下, 滑膜成纤维细胞释放的效应分子作用于多种细胞(淋巴细胞、单核细胞、间充质细胞), 调节关节炎^[16], 促进基质降解和血管新生, 增加滑膜血管翳形成与增殖而加重其对关节软骨及骨的侵蚀破坏作用; 而本研究发现阻断 AdipoR1 可以有效抑制 LPS 诱导 MH7A 细胞的增殖、促进凋亡。

本研究在体外水平证明了 AdipoR1 的沉默可抑制 LPS 所诱导的 MH7A 细胞增殖, 促进细胞凋亡, 抑制了可能的 AdipoR1 相关信号通路在 RA 中可能存在的炎症信号放大作用^[17], 阻断该途径可有效阻断 LPS 诱导的促细胞异常增殖效应, 并促进细胞凋亡, 为 RA 的防治提供了新的治疗靶点和思路。

[参考文献]

- [1] 中华医学会风湿病学分会. 类风湿关节炎诊断及治疗指南[J]. 中华风湿病学杂志, 2010, 14(4): 265-270
- [2] Kay J, Em. G. Rheumatoid arthritis: erosion defined: back to basics[J]. Nat Rev Rheumatol, 2013, 9(6): 323-324
- [3] 徐丽玲, 苏茵. 2015 年美国风湿病学会类风湿关节炎的治疗指南[J]. 中华风湿病学杂志, 2016(1): 69-70
- [4] Gomez R, Conde J, Scotece M, et al. What's new in our understanding of the role of adipokines in rheumatic diseases[J] Nat Rev Rheumatol, 2011, 7(9): 528-536
- [5] 王芳, 谈文峰, 张缪佳, 等. 脂肪因子脂联素及其受体在类风湿关节炎炎性关节中高表达[J]. 中华风湿病学杂志, 2009, 13(11): 745-748
- [6] Tan W, Wang F, Zhang M, et al. High adiponectin and adiponectin receptor 1 expression in synovial fluids and synovial tissues of patients with rheumatoid arthritis[J]. Semin Arthritis Rheum, 2009, 38(6): 420-427
- [7] 谈文峰, 王芳, 张缪佳, 等. 运用基因芯片初步研究类风湿关节炎患者外周血单个核细胞基因表达谱特征[J]. 中华风湿病学杂志, 2006, 10(12): 745-750
- [8] 谈文峰, 徐凌霄, 王芳, 等. 类风湿关节炎炎性关节中

- 2007, 3(2): 109-115
- [14] Ta MO, Rubino F. Gastrointestinal surgery as treatment for type 2 diabetes [J]. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*, 2008, 15(2): 153-158
- [15] Wang TT, Hu SY, Gao HD, et al. Ileal transposition controls diabetes as well as modified duodenal jejunal bypass with better lipid lowering in a nonobese rat model of type II diabetes by increasing GLP-1 [J]. *Ann Surg*, 2008, 247(6): 968-975
- [16] Tarnoff M, Rodriguez L, Escalona A, et al. Open label, prospective, randomized controlled trial of an endoscopic duodenal-jejunal bypass sleeve versus low calorie diet for pre-operative weight loss in bariatric surgery [J]. *Surg Endosc*, 2009, 23(3): 650-656
- [17] Shoelson SE, Lee J, Goldfine AB. Inflammation and insulin resistance [J]. *J Clin Invest*, 2006, 116(7): 1793-1801
- [18] Graham TE, Yang Q, Blüher M, et al. Retinol-binding protein 4 and insulin resistance in lean, obese, and diabetic subjects [J]. *N Engl J Med*, 2006, 354(24): 2552-2563
- [19] Yang Q, Graham TE, Mody N, et al. Serum retinol binding protein 4 contributes to insulin resistance in obesity and type 2 diabetes [J]. *Nature*, 2005, 436(749): 356-362
- [20] Mody N, Graham TE, Tsuji Y, et al. Decreased clearance of serum retinol-binding protein and elevated levels of transthyretin in insulin-resistant ob/ob mice [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2008, 294(4): E785-E793
- [21] Dela F, Ploug T, Handberg A, et al. Physical training increases muscle GLUT4 protein and mRNA in patients with NIDDM [J]. *Diabetes*, 1994, 43(7): 862-865
- [22] Zisman A, Peroni OD, Abel ED, et al. Targeted disruption of the glucose transporter 4 selectively in muscle causes insulin resistance and glucose intolerance [J]. *Nat Med*, 2000, 6(8): 924-928

[收稿日期] 2017-06-20

(上接第 1113 页)

- 高水平脂联素促进白细胞介素-6、单核细胞趋化因子-1 和核因子- κ B 受体活化因子配体表达 [J]. *中华风湿病学杂志*, 2010, 14(9): 592-596
- [9] Dessein PH, Tsang L, Solomon A, et al. Adiponectin and atherosclerosis in rheumatoid arthritis [J]. *Mediators Inflamm*, 2014, 2014(5): 147-147
- [10] Xydakis AM, Case CC, Jones PH, et al. Adiponectin, inflammation, and the expression of the metabolic syndrome in obese individuals: the impact of rapid weight loss through caloric restriction [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2004, 89(6): 2697-2703
- [11] Turner JD, Filer A. The role of the synovial fibroblast in rheumatoid arthritis pathogenesis [J]. *Curr Opin Rheumatol*, 2015, 27(2): 175-82.
- [12] Lefevre S, Meier FM, Neumann E, et al. Role of synovial fibroblasts in rheumatoid arthritis [J]. *Curr Pharm Des*, 2014, 21(2): 130-141
- [13] Feldmann M, Maini RN. Anti-TNF alpha therapy of rheumatoid arthritis: what have we learned [J]. *Annu Rev Immunol*, 2001, 19: 163-196
- [14] Collison J. Rheumatoid arthritis: Paving the way for TNF vaccines [J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2016, 12(12): 692
- [15] Jo KW, Hong YK, Jung YJ, et al. Incidence of tuberculosis among anti-tumor necrosis factor users in patients with a previous history of tuberculosis [J]. *Respir Med*, 2013, 107(11): 1797-1802
- [16] Shrivastava AK, Pandey A. Inflammation and rheumatoid arthritis [J]. *J Physiol Biochem*, 2013, 69(2): 335-347
- [17] Kontny E, Plebanczyk M, Lisowska B, et al. Comparison of rheumatoid articular adipose and synovial tissue reactivity to proinflammatory stimuli: contribution to adipocytokine network [J]. *Ann Rheumat Dis*, 2012, 71(2): 262-267

[收稿日期] 2017-03-17