

doi: 10.3969/j.issn.1000-484X.2013.12.002

## TIPE2 过表达质粒转染大鼠佐剂型关节炎滑膜成纤维样细胞及分析<sup>①</sup>

石春燕 何琼<sup>②</sup> 杨晶晶 庄国洪 (厦门大学医学院抗癌研究中心, 厦门 361100)

中国图书分类号 R392.12 文献标识码 A 文章编号 1000-484X(2013)12-1240-05

**[摘要]** 目的: 通过 TIPE2 表达质粒转染大鼠佐剂型关节炎 (AA) 成纤维样滑膜细胞 (FLS) 体外研究 AA 的发病中 TIPE2 对 DR5 介导细胞凋亡的作用。方法: 应用 MIGR1/TIPE2<sup>+/+</sup> 表达质粒, 经脂质体法导入 AA-FLS 细胞中, 转染 72 小时后, 荧光显微镜检测质粒自带 GFP 基因的表达情况确认转染效率, 以未作处理的 AA-FLS 为对照组, 用半定量逆转录聚合酶链反应 (RT-PCR) 检测 TIPE2 mRNA 的表达, 用 Western blot 法检测 TIPE2 蛋白的表达变化, MTT 法以及流式细胞术检测抗 DR5 功能性单链抗体 ZF1 对两组细胞生长的影响。结果: 成功获得荧光强度 90% 的 TIPE2 过表达 AA-FLS 细胞, TIPE2 mRNA 及蛋白表达显著提高。抗 DR5 单链抗体 ZF1 对 TIPE2<sup>+/+</sup> 的 FLS 组细胞具有明显生长抑制及凋亡诱导作用, 与不作处理的 FLS 组相比差异显著。结论: TIPE2<sup>+/+</sup> 表达质粒明显提升 AA-FLS 的 TIPE2 蛋白表达水平, TIPE2 对 DR5 介导细胞凋亡有重要作用。

**[关键词]** 类风湿关节炎; 佐剂型关节炎; 成纤维样滑膜细胞; DR5; TIPE2

### Fibroblast-like synoviocytes from adjuvant arthritis rat were transfected with plasmid over-expressed TIPE2 and its related analysis

SHI Chun-Yan, HE Qiong, YANG Jing-Jing, ZHUANG Guo-Hong. Anti-Cancer Research Center, Medical College, Xiamen University, Xiamen 361100, China

**[Abstract]** **Objective:** Fibroblast-like synoviocytes from adjuvant arthritis (AA) rat were transfected with plasmid over-expressed TIPE2<sup>+/+</sup>, then apoptosis mediated by TIPE2 on DR5 and its pathological role in adjuvant arthritis (AA) were studied in vitro. **Methods:** The plasmid of MIGR1/TIPE2<sup>+/+</sup> were transfected to AA-FLS by liposome, after 72 h, the expression of GFP gene that plasmid owned was identified by fluorescence microscope in confirm transfection efficiency, TIPE2 mRNA expression was detected by semi-quantitative reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR), TIPE2 protein expression of AA-FLS were detected by Western blot. The growth resistance of cells mediated by ZF1 (DR5 single chain antibody) was detected by MTT method and flow cytometry. **Results:** Plasmid over-expressed TIPE2<sup>+/+</sup> were transfected to AA-FLS successfully as the fluorescence intensity reached 90%, TIPE2 mRNA and protein expression were significantly improved. Furthermore, the growth inhibition and apoptosis induction effect on FLS/TIPE2<sup>+/+</sup> were significant, compared with FLS without processing. **Conclusion:** TIPE2 expression level in AA-FLS are significantly improved by transfecting plasmid expressed TIPE2<sup>+/+</sup>, TIPE2 plays an important pathological role in apoptosis mediated by DR5.

**[Key words]** Rheumatoid arthritis; Adjuvant arthritis; Fibroblast-like synoviocytes; DR5; TIPE2

类风湿关节炎 (Rheumatoid arthritis, RA) 是一种慢性自身免疫性疾病, 以滑膜组织炎性增生、关节软骨进行性破坏为特征, 其危害严重, 我国 RA 发病率高。RA 患者滑膜组织中凋亡细胞频率较低, 衬

里下层成纤维样滑膜细胞的凋亡率仅为 3%, 衬里层细胞几乎无凋亡迹象, 其生长性质及病理学行为在许多方面类似于肿瘤组织的特性<sup>[1]</sup>。滑膜成纤维样细胞 (Fibroblast-like synoviocytes, FLS, 也称 B 型滑膜细胞) 在病理过程中有着重要地位<sup>[2]</sup> 因此, RA-FLS 凋亡缺陷是 RA 发病的一个重要病理机制<sup>[3]</sup>。

Wiley 等<sup>[4]</sup> 发现 TNF 超家族成员肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体 TRAIL (TNF related apoptosis inducing ligand), 可以通过其受体 DR4 (Death receptor 4) 及 DR5 (Death receptor 5) 诱导肿瘤细胞凋亡, 而对正常细胞无影响。研究证实, DR5 在 RA 滑

①本文受国家自然科学基金项目基金 (81072472) 和福建省自然科学基金项目基金 (2012J01416) 资助

②厦门市波生生物技术有限公司, 厦门 361000

作者简介: 石春燕 (1987 年 -), 女, 在读硕士, 主要从事肿瘤免疫与自身免疫研究, E-mail: scy20081011@163.com;

通讯作者及指导教师: 庄国洪 (1969 年 -), 女, 博士, 副教授, 硕士生导师, 主要从事肿瘤免疫与自身免疫方面的研究, E-mail: zhgh@xmu.edu.cn。

膜中有表达,而 Anti-DR5 mAb 可以诱导滑膜成纤维细胞凋亡<sup>[5]</sup>。但从理论上推测在 DR5 高表达时滑膜成纤维细胞理应发生凋亡,可实验结果则显示细胞增生,那么,在 RA 发病过程中滑膜为什么呈增生状态并且淋巴细胞大量活化而导致炎症的发生呢,其中是否有其他的免疫调节分子的作用?

TIPE2 (TNF- $\alpha$ -induced protein 8-like 2) 是 TN-FAIP8 (TNF- $\alpha$ -induced protein 8) 家族中新发现的蛋白,是体内维持免疫动态平衡的必需蛋白之一<sup>[6,7]</sup>,通过对 T 细胞受体和 Toll 样受体信号途径实行负向调控,进而调节机体固有免疫应答和适应性免疫应答过程,被认为是研究机体免疫动态平衡新的切入点<sup>[8]</sup>。另有研究提示, TIPE2 可以抑制血管平滑肌的增殖<sup>[9]</sup>,那么其对 RA-FLS 的增殖是否有类似作用?

已有研究表明,大鼠佐剂型关节炎 (Adjuvant arthritis, AA) 模型是兼有局部关节炎和全身表现的类风湿关节炎动物模型,为研究 RA 的发病机制及药物疗效提供理想的实验模型<sup>[10]</sup>。本实验以自行制备的能与 eDR5 特异性结合,并有较强活性的抗 DR5 单链抗体 ZF1 为凋亡诱导剂<sup>[11]</sup>,以佐剂型关节炎大鼠 FLS 细胞为材料,以 TIPE2 为中心点,在体外实验中探讨在 AA 的发病中 TIPE2 对 DR5 介导细胞凋亡的调控作用。

## 1 材料与方法

**1.1 主要试剂** 抗 DR5 单链抗体 ZF1,由本实验室制备;佐剂型关节炎 (Adjuvant arthritis, AA) 大鼠 FLS 细胞株由厦门大学抗癌研究中心保存;MIGR1/TIPE2<sup>+/+</sup> 表达质粒及 MIGR1 空载质粒由宾夕法尼亚大学陈有海教授惠赠;四氮唑蓝 (MTT) 购自厦门泰京生物技术有限公司;Lipofectamine 2000 购自 Invitrogen 公司;引物购自 QIAGEN 公司;抗体购自杭州华安生物技术有限公司。

### 1.2 细胞培养转染

**1.2.1 细胞培养** 人肾上皮细胞系 293T, AA 大鼠 FLS 细胞系用含有 10% 小牛血清及青霉素和链霉素各 100 U/ml 的 DMEM 培养液于 37℃、5% CO<sub>2</sub> 条件下培养,隔日传代,取对数生长期细胞进行实验。

**1.2.2 293T 细胞转染** 方法参考文献 [12],待 293T 细胞在六孔板中融合度达 60% 左右时,转染质粒 (MIGR1/TIPE2<sup>+/+</sup> 表达质粒组及 MIGR1 空载质粒组),每孔质粒 4.5  $\mu$ g, Lipofectamine 2000 每孔使用体积 10  $\mu$ l, 48 小时检测转染及干扰效率,筛选最有效干扰组,收集上清转染目的细胞。

**1.2.3 AA 大鼠 FLS 细胞转染** 待 FLS 细胞融合度达到 70% 左右时,用 1.2.2 所得上清转染 48 小时荧光显微镜观察转染效率,人工筛选荧光细胞,得到 90% 纯合度的 TIPE2 过表达基因的 AA 大鼠 FLS 细胞 (简称 TIPE2<sup>+/+</sup> 的 FLS)。

**1.3 转染 MIGR1/TIPE2<sup>+/+</sup> 后 AA 大鼠 FLS 细胞的鉴定**

**1.3.1 GFP 表达的检测** 荧光显微镜观察 GFP 表达,以不做处理 AA 大鼠 FLS 为对照组。

**1.3.2 RT-PCR 检测 TIPE2 基因的表达** 各取  $1 \times 10^6$  个转染 MIGR1/TIPE2<sup>+/+</sup> 的 AA-FLS 细胞、未转染 AA-FLS 细胞。采用 Trizol 试剂一步法提取细胞总 RNA,以磷酸甘油醛脱氢酶 (GAPDH) 为内参照,行 RT-PCR 技术检测。逆转录反应按试剂盒 (TaKaRa 公司产品) 说明书操作。上述引物全部由 QIAGEN 公司合成。最后取 5  $\mu$ l PCR 产物琼脂糖凝胶电泳鉴定扩增结果,观察 PCR 产物的大小。

**1.3.3 Western blot 检测 TIPE2 蛋白表达** 各取  $1 \times 10^7$  个转染 MIGR1/TIPE2<sup>+/+</sup> 的 AA-FLS 细胞、未转染正常 FLS 细胞,将各组细胞收集裂解提取蛋白,样品经 12% SDS-PAGE 电泳分离后,湿转至 PVDF 膜上,用含 5% 脱脂奶粉的 TBST 室温封闭,洗膜孵育一抗 (TIPE2) 过夜,洗膜 3 次,室温下孵育二抗 (1:3 000) 同上洗膜 3 次, ECL 发光化学检测。

**1.4 MTT 法检测 ZF1 对大鼠 FLS 的细胞毒性效应**

96 孔板每孔加 100  $\mu$ l FLS 细胞悬液 ( $3 \times 10^4$  / 孔) 5 复孔培养,分为实验组与阴性对照组,实验组分别加入终浓度为 0.5、0.25、0.125、0.063 mg/ml 的 200  $\mu$ l ZF1 溶液;阴性对照组加入鼠 IgG。培养 8 小时,加入 MTT 工作液 20  $\mu$ l/孔,继续培养 4 小时。弃上清,每孔加入 200  $\mu$ l DMSO 振荡,用酶标仪测 A570 吸收值。实验重复 3 次。细胞生长抑制率 (%) = (1 - 实验孔 OD570 / 对照孔 OD570)  $\times$  100%。重复试验 3 次。

**1.5 CyStain DNA 1step 染色流式细胞术对 ZF1 诱导细胞凋亡率的检测** 取对数生长期的 FLS 细胞以及 TIPE2<sup>+/+</sup> 的 FLS,用 0.125% 胰酶消化,制成单细胞悬液,调整细胞浓度为  $1 \times 10^6$  ml<sup>-1</sup>。收集并制备细胞悬液,加入 6 孔培养板 2 ml/孔,每孔细胞终浓度为  $5 \times 10^5$  ml<sup>-1</sup>,置 37℃、5% CO<sub>2</sub> 培养 24 小时,实验孔加入 ZF1 溶液,终浓度分别 0.5、0.25、0.125 mg/ml 2 ml,阴性对照孔加含相应溶剂量 PBS 的 DMEM 培养液,置 37℃、5% CO<sub>2</sub> 培养 4 小时。胰酶消化,收集细胞于 Eppendorf 管离心,用 PBS 洗涤

1 次,取  $5 \times 10^5$  细胞悬浮于 70% 的乙醇中固定过夜,离心,用 PBS 洗涤 1 次,加 CyStain DNA 1step 试剂 1 ml,避光混匀后,室温放置 10 分钟,流式细胞术检测细胞周期。WinCycle32 软件分析所得数据。

1.6 统计学分析 两两比较用 *t* 检验,流式细胞术对 ZF1 诱导细胞凋亡率的检测结果用析因设计资料的方差分析,MTT 法检测 ZF1 对大鼠 FLS 的细胞毒性效应的结果用重复测量资料的方差分析,使用 SPSS18.0 软件包进行统计学分析,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 荧光显微镜观察质粒转染 AA-FLS 的 GFP 表达 经转染, MIGR1/ TIPE2<sup>+/+</sup> 表达质粒组转染效率为 40%, 后经人工挑选获得纯度 90% 的 TIPE2 过表达 AA-FLS(图 1B); 而 MIGR1 空载质粒组的转染效率很低, 故选未作处理的 AA-FLS 作为对照组(图 1A)。

2.2 RT-PCR 的方法检测 TIPE2 mRNA 的表达

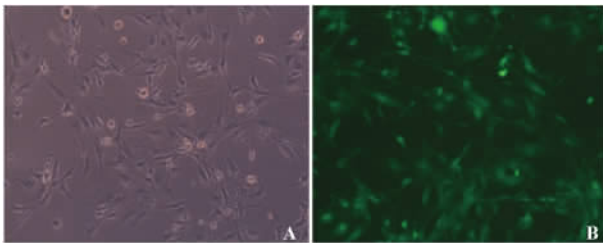


图 1 荧光显微镜下 MIGR1/ TIPE2<sup>+/+</sup> 表达质粒转染的 FLS 细胞(×100)

Fig. 1 FLS cell observed by fluorescence after MIGR1/ TIPE2<sup>+/+</sup> transfection (×100)

Note: A. AA-FLS in the absence of processing (×100); B. AA-FLS transfected with TIPE2<sup>+/+</sup> expression plasmid (×100).

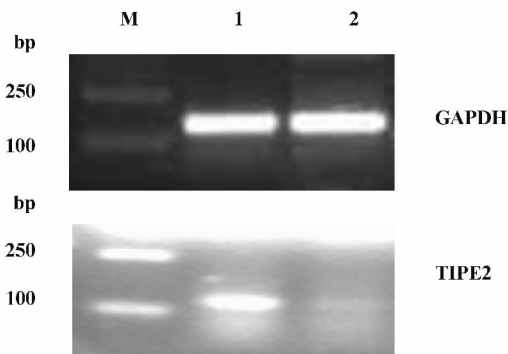


图 2 RT-PCR 的方法检测 TIPE2 mRNA 的表达

Fig. 2 TIPE2 mRNA expression measured by RT-PCR

Note: M. DNA marker; 1. TIPE2<sup>+/+</sup>/FLS; 2. FLS without processing.

通过 RT-PCR 检测 TIPE2 mRNA 在转染前后 FLS 细胞的表达情况。结果提示 TIPE2 mRNA 在转染前后的表达情况不同,其中转染 MIGR1/ TIPE2<sup>+/+</sup> 后 TIPE2 mRNA 在 FLS 中表达明显提高, TIPE2 mRNA 表达在 127 bp, 电泳结果与设计引物扩增片段相符(图 2)。

2.3 Western blot 检测 TIPE2 蛋白表达 通过 Western blot 检测 TIPE2 蛋白表达, 结果(图 3)提示在未作处理的 FLS 组内参  $\beta$ -actin 蛋白稍多于 TIPE2<sup>+/+</sup> 的 FLS 组情况下, 后者的 TIPE2 蛋白表达明显多于未作处理的 FLS 组, 未作处理的 FLS 组 TIPE2 无表达。

2.4 MTT 法检测 ZF1 诱导 FLS 凋亡的细胞毒性效应 不同浓度 ZF1 对各组的生长抑制率如表 1, 抗 DR5 单链抗体 ZF1 对 TIPE2<sup>+/+</sup> 的 FLS 组细胞具有明显生长抑制及凋亡诱导作用, 与正常 FLS 相比差异显著,  $P < 0.05$ 。并随着剂量的增加, 细胞生长抑制率也随之增加, 呈明显的剂量依赖性(图 4)。

2.5 CyStain DNA 1step 染色检测 ZF1 诱导 AA 细胞凋亡 对未作处理的 FLS 组进行分析, PBS 组的凋亡率为 2.64%, 0.25 mg/ml ZF1 组的凋亡率为 18.1%; 对 TIPE2<sup>+/+</sup> 的 FLS 组进行分析, PBS 组的凋亡率为 5.71%, 0.25 mg/ml ZF1 作用组的凋亡率为 38.7%。对以上数据进行析因设计资料的方差

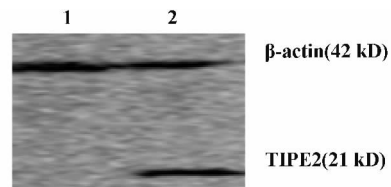


图 3 Western blot 检测 TIPE2 蛋白表达

Fig. 3 Western blot detection TIPE2 protein expression

Note: 1. FLS without processing; 2. TIPE2<sup>+/+</sup>/FLS.

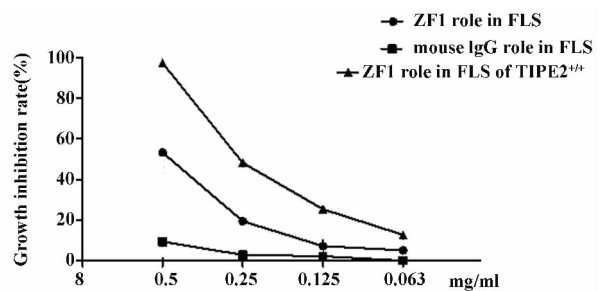


图 4 MTT 比色法检测不同浓度 ZF1 对 FLS 细胞增殖的影响

Fig. 4 Different concentrations ZF1 affect FLS cell proliferation detected by MTT assay

表 1 MTT 检测 ZF1 对 FLS 的生长抑制率( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Tab.1 MTT detection rate of growth inhibition of FLS treated by ZF1( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Groups	Growth inhibition rate of different concentrations ( mg/ml) of ZF1 in cells			
	0.063	0.125	0.25	0.5
FLS group	5.11 ± 0.08%	7.23 ± 0.06 %	19.49 ± 0.06 % <sup>1)</sup>	53.29 ± 0.05% <sup>2)</sup>
TIPE2 <sup>+/+</sup> group	12.73 ± 0.06% <sup>3)</sup>	25.35 ± 0.06 % <sup>1)4)</sup>	48.18 ± 0.05 % <sup>2)4)</sup>	97.3 ± 0.08% <sup>2)4)</sup>

Note: 1)  $P < 0.05$ , 2)  $P < 0.01$  the main effects of concentration; 3)  $P < 0.05$  4)  $P < 0.01$  the main effects of processing.

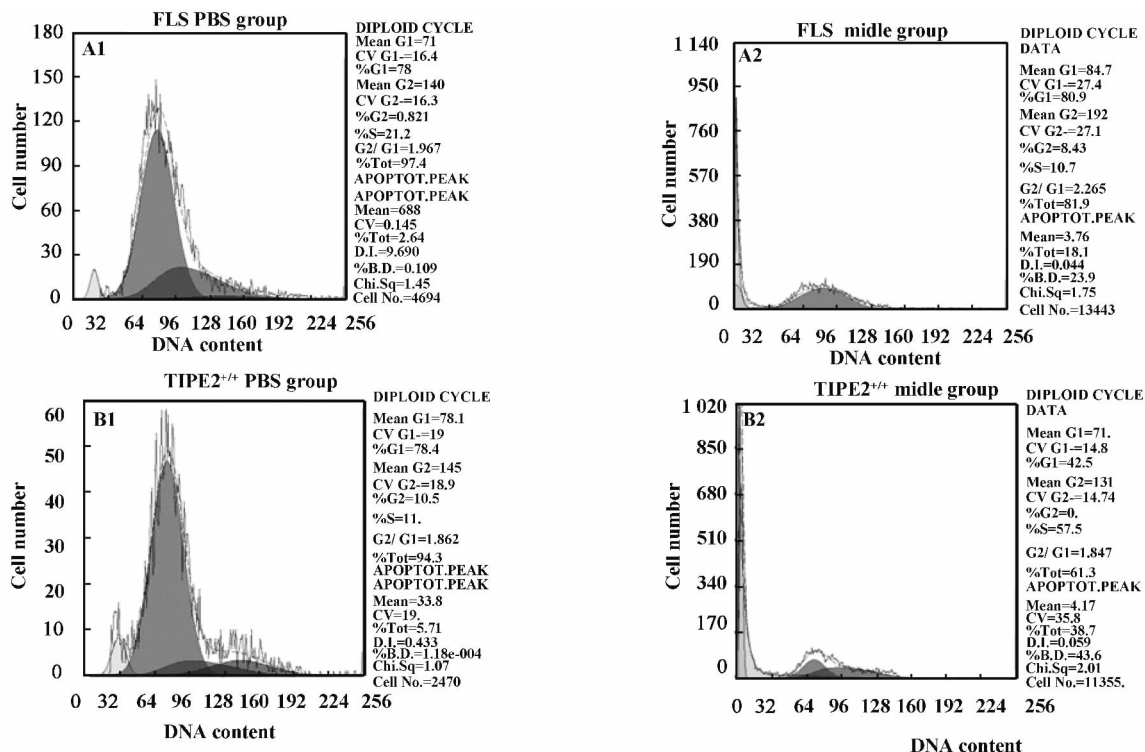


图 5 CyStain DNA 1step 染色流式细胞术对 ZF1 诱导细胞凋亡率的检测

Fig.5 ZF1 inducing cell apoptosis rate detected by One step dyeing CyStain DNA flow cytometry

Note: A. FLS group; B. TIPE2<sup>+/+</sup> /FLS group; 1. PBS group; 2. 0.25 mg/ml ZF1 group.

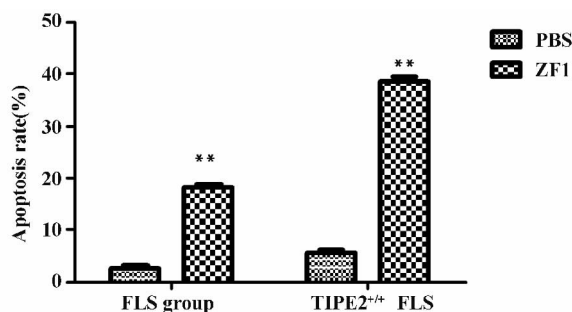


图 6 ZF1 对 FLS 以及 TIPE2<sup>+/+</sup> 的 FLS 的生长抑制率

Fig.6 Growth inhibition rate of FLS and TIPE2<sup>+/+</sup> FLS treated by ZF1

Note: \*\*.  $P < 0.01$ .

分析, 两组差异显著  $P < 0.05$  具有统计学意义, 与不处理组 FLS 相比, ZF1 的促凋亡作用在

TIPE2<sup>+/+</sup> 的 FLS 组表现得更为明显(图 5.6)。

### 3 讨论

TIPE2 作为一种负性调节蛋白, 在炎症介质反应过程中具有重要调控作用。新近的初步临床观察提示, TIPE2 表达可能参与了系统性红斑狼疮的病理过程<sup>[13]</sup>。Sun 等<sup>[6]</sup>利用 TIPE2 基因构建的逆转录载体转染造血细胞, 使 TIPE2 过表达, 抗原刺激后 T 细胞早期活化的标志分子 CD69 表达和 IFN- $\gamma$  的产生均明显下降, CD44 表达也减弱。TIPE2 过表达时, 免疫细胞分裂增生能力受抑, 提示 TIPE2 在某些特定条件可调控细胞有丝分裂。本研究通过 TIPE2<sup>+/+</sup> 表达质粒成功转染 AA-FLS, 利用抗 DR5 (下转第 1253 页)

- 18 马海乐,许审时,何荣海 *et al.* 利用 Fura-2/AM 荧光探针法和 LCSM 法研究受磁场处理 *Saureus* 细胞  $Ca^{2+}$  的跨膜行为[J]. 光谱学与光谱分析 2012; 32(4): 407-410.
- 19 李玉杰. 共刺激分子 CD28: CTLA4/B7 及 CD40/CD40L 和 SLE [J]. 国外医学免疫学分册 2003; 26(1): 4-6.
- 20 李富荣,叶志中,戴勇 *et al.* 活动期 SLE 患者 T、B 淋巴细胞 CD69 表达的动态观察[J]. 上海免疫学杂志, 2002; 22(1): 34-36.
- 21 Cohen P L, Eisenberg R A. lpr and gld: single gene models of systemic autoimmunity and lymphoproliferative disease [J]. *Annu Rev Immunol*, 1991; 9(3): 243-269.

- 22 Haifa H Jabara, Federica Angelini, Scott R Brodeur, *et al.* Ligation of CD46 to CD40 inhibits CD40 signaling in B cells [J]. *International Immunology* 2011; 23(3): 215-221.
- 23 Testi R, Ambrosio D D, Maria R D *et al.* The CD69 receptor: a multipurpose cell-surface trigger for hematopoietic cells [J]. *Immunol Today*, 1994; 15(10): 479-483.

[收稿 2013-03-01 修回 2013-07-01]

(编辑 许四平)

(上接第 1243 页)

单链抗体 ZF1 为凋亡诱导剂,探讨 TIPE2 在 RA 的发病中的作用。

经 MTT 实验分析发现抗 DR5 功能性单链抗体 ZF1 能够抑制大鼠滑膜细胞的生长,并且呈明显的剂量依赖性,其生长抑制作用在 TIPE2 过表达的 AA-FLS 更为明显,  $P < 0.05$ , 两组差异性具有统计学意义。流式细胞术检测发现抗 DR5 性单链抗体 ZF1 处理后的细胞出现明显的凋亡峰,两组细胞的凋亡率差异显著,  $P < 0.05$ , 具有统计学意义。另外,我们还发现 PBS 处理组的 TIPE2 过表达的 AA-FLS 的凋亡率为 5.71%, 而未作处理的 AA-FLS 4 小时凋亡率为 2.64%, 统计分析,两者差异显著,  $P < 0.05$ , 具有统计学意义,提示 TIPE2 具有促进 AA-FLS 凋亡的作用,这与文献报道 TIPE2 在巨噬细胞 TLR2、TLR3、TLR4 及 TLR9 信号转导通路中发挥负调控作用,巨噬细胞系(RAW264.7)在静止状态和 LPS 刺激的情况下,都能与 Caspase-8 相互作用,从而促进 Fas 介导的细胞凋亡及 T 细胞活化诱导的细胞凋亡是一致的<sup>[8,14]</sup>。

抗 DR5 功能性单链抗体 ZF1 是本实验室纯化所得, CyStain DNA 1step 染色流式细胞术对 ZF1 诱导细胞凋亡率的检测实验结果显示,在 AA-FLS 组中, PBS 组凋亡率为 2.64% 而透析液组凋亡率为 2.4%,  $P > 0.05$ , 两者差异性无统计学意义,从而排除所用自制试剂 ZF1 中含有纯化过程中残留试剂的作用。

综上所述,本实验中我们发现在 AA-FLS 中 TIPE2 对 DR5 介导细胞凋亡有重要调控作用,具体的调控分子机制有待深入研究。TIPE2 的促凋亡作用在临床上具有重要意义,可能是 RA 治疗的一个新靶标。

#### 4 参考文献

- 1 周京国,郭晓兰,唐中 *et al.* 可溶性尿酸酶型纤溶酶原激活物

受体在 RA 患者血浆和滑液的水平及其临床意义[J]. 中华风湿病学杂志 2006; 10(12): 713-716.

- 2 Bartok B, Firestein G. Fibroblast-like synoviocytes: key effector cells in rheumatoid arthritis [J]. *Immunol Rev*, 2010; 233: 233-255.
- 3 Firestein G. Evolving concepts of rheumatoid arthritis [J]. *Nature*, 2003; 423(6937): 356-361.
- 4 Wiley S R, Schooley K, Smolak P J *et al.* Identification and characterization of new member of the TNF family that induces apoptosis [J]. *Immunity*, 1995; 3(6): 673-682.
- 5 李文珠,陶惠然,胡庆中. 抗死亡受体 5 抗体对大鼠佐剂性关节炎的作用机理探讨[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2007; 27(7): 651-655.
- 6 Sun H, Gong S, Carmody R *et al.* TIPE2 a negative regulator of innate and adaptive immunity that maintains immune homeostasis [J]. *Cell*, 2008; 133(3): 415-426.
- 7 Sun H, Zhuang G, Chai L *et al.* TIPE2 controls innate immunity to RNA by targeting the phosphatidylinositol 3-Kinase-Rac pathway [J]. *J Immunol*, 2012; 189(6): 2768-2773.
- 8 蒋丽娜,姚咏明. 肿瘤坏死因子  $\alpha$  诱导蛋白 8 家族的研究进展 [J]. 中华损伤与修复杂志(电子版) 2011; 2(2): 268-278.
- 9 Zhang G, Zhang W, Lou Y *et al.* TIPE2 deficiency accelerates neointima formation by downregulating smooth muscle cell differentiation [J]. *Cell Cycle*, 2013; 12(350): 1-10.
- 10 李培培,解国雄,宋珊珊. 大鼠佐剂性关节炎模型表现特征及评价指标 [J]. 中国免疫学杂志 2012; 28(5): 453-457.
- 11 程小峰,张佳锴,孟庆宇. 抗人死亡受体 5 单链抗体特性分析 [J]. 免疫学杂志 2011; 27(1): 70-72.
- 12 孙杰,刘玉华,陈永井 *et al.* 人 CXCR3 基因转染细胞株的构建、鉴定及初步功能研究 [J]. 中国免疫学杂志, 2010; 26(5): 387-391.
- 13 Li D, Song L, Fan Y *et al.* Down-regulation of TIPE2 mRNA expression in peripheral blood mononuclear cells from patients with systemic lupus erythematosus [J]. *Clin Immunol*, 2009; 133(3): 422-427.
- 14 王永祥,马浩,高琦 *et al.* TIPE2 和炎症细胞因子在鼠动脉粥样斑块形成中的表达及其相互关系 [J]. 山东大学学报(医学版) 2008; 12: 1124-1127, 1131.

[修稿 2013-09-27]

(编辑 张晓舟)