

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2019.06.003

白细胞介素-1 受体拮抗蛋白对大鼠创伤性骨关节炎的治疗作用及机制研究*

宋思琦¹, 吴丹², 胡毓诗^{1△}

(1. 成都体育学院运动医学与健康学院, 成都 610041; 2. 北京体育大学运动人体科学学院, 北京 100084)

[摘要] **目的** 研究白细胞介素-1 受体拮抗蛋白(IL1RA)对大鼠创伤性骨关节炎(PTOA)的治疗作用及机制。**方法** 将 50 只 SD 大鼠分为假手术组, 模型组, IL1RA 低、中、高剂量组(10、20、40 mg/mL), 除假手术组外, 其余组均复制 PTOA 模型。ELISA 检测白细胞介素(IL)-1 β 、IL-8、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)水平, Real-time PCR 法检测 II 型胶原蛋白(COL- II)、蛋白聚糖(Aggrecan)、基质金属蛋白酶-1(MMP-1)、MMP-13、聚蛋白多糖酶-4(ADAMTs-4)及 ADAMTs-5 mRNA 的表达, Western blot 检测 MMP-1、MMP-13、ADAMTs-4、ADAMTs-5、基质金属蛋白酶抑制剂-1(TIM-1)及 TIM-3 蛋白表达。**结果** 与假手术组比较, 模型组 IL-1 β 、IL-8 及 TNF- α 水平明显提高($P < 0.05$), COL- II、Aggrecan mRNA 表达明显下调($P < 0.05$), MMP-1、MMP-13、ADAMTs-4、ADAMTs-5 mRNA 及蛋白表达明显上调($P < 0.01$), TIM-1 及 TIM-3 蛋白表达明显下调($P < 0.05$)。与模型组比较, IL1RA 低、中、高剂量组 IL-1 β 、IL-8 及 TNF- α 水平明显降低($P < 0.05$), COL- II、Aggrecan mRNA 表达明显上调($P < 0.05$), MMP-1、MMP-13、ADAMTs-4、ADAMTs-5 mRNA 表达明显下调($P < 0.05$), ADAMTs-4、ADAMTs-5 蛋白表达明显下调($P < 0.05$), TIM-1 及 TIM-3 蛋白表达明显上调($P < 0.05$); IL1RA 中、高剂量组中 MMP-1 及 MMP-13 蛋白表达明显下调($P < 0.05$)。**结论** IL1RA 对 PTOA 大鼠具有治疗作用, 与抑制细胞外基质降解, 促进细胞外基质合成有关。

[关键词] 白细胞介素 1 受体拮抗蛋白; 骨关节炎; 代谢**[中图分类号]** R475.4**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2019)06-0909-04

Effect and mechanism of interleukin-1 receptor antagonist protein on post-traumatic osteoarthritis in rats*

SONG Siqu¹, WU Dan², HU Yushi^{1△}

(1. College of Sports Medicine and Health, Chengdu Sport University, Chengdu, Sichuan 610041, China; 2. School of Sport Science Beijing Sport University, Beijing 100084, China)

[Abstract] **Objective** To investigate effect and mechanism of interleukin-1 receptor antagonist protein (IL1RA) on post-traumatic osteoarthritis (PTOA) in rats. **Methods** Fifty SD rats were randomly divided into the sham operation group, model control group, IL1RA low, medium and high doses groups (10, 20, 40 mg/mL). Except for the sham operation group, the PTOA model was copied in the other groups. The level of IL-1 β , IL-8 and tumor necrosis factor- α (TNF- α) was detected by using the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The expressions of type II collagen (COL- II), Aggrecan, matrix metalloproteinase-1 (MMP-1), MMP-13, a disintegrin-like and metalloproteinase with thrombospondin motifs-4 (ADAMTs-4) and ADAMTs-5 mRNA were detected by the realtime PCR method. The expression of MMP-1, MMP-13, ADAMTs-4, ADAMTs-5, tissue inhibitor of metalloproteinases-1 (TIMP-1) and TIMP-3 protein was detected by Western blot. **Results** Compared with the sham operation group, the levels of IL-1 β , IL-8 and TNF- α in the model group were significantly increased ($P < 0.05$), the expressions of COL- II and Aggrecan mRNA were significantly down-regulated ($P < 0.05$), the expressions of MMP-1, MMP-13, ADAMTs-4 and ADAMTs-5 protein and mRNA were significantly up-regulated ($P < 0.05$), the expressions of TIMP-1 and TIMP-3 protein were significantly down-regulated ($P < 0.05$). Compared with the model group, the levels of IL-1 β , IL-8 and TNF- α in the IL1RA low, medium and high doses groups were significantly decreased ($P < 0.05$), the expressions of COL- II and Aggrecan mRNA were significantly up-regulated ($P < 0.05$), while the expressions of MMP-1, MMP-13, ADAMTs-4 and ADAMTs-5 mRNA were significantly down-regulated ($P < 0.05$), the expressions of ADAMTs-4 and ADAMTs-5 protein were significantly down-regulated ($P < 0.05$), the expressions of TIMP-1

and TIMP-3 protein were significantly up-regulated ($P < 0.05$); the expressions of MMP-1, MMP-13 protein in the IL1RA medium and high doses groups were significantly down-regulated ($P < 0.05$). **Conclusion** IL1RA has the curative effect on PTOA rats, which may be related with inhibiting extracellular matrix decomposition and promoting the synthesis of extracellular matrix.

[Key words] interleukin-1 receptor antagonist protein; post-osteoarthritis; metabolism

创伤性关节炎(post-traumatic osteoarthritis, PTOA)是一种由于创伤引起的关节软骨退化、增生、骨化的一种 OA, 临床病症主要变现为关节疼痛、关节活动障碍等^[1-2]。近年来, 由于交通事故、外伤的增多, PTOA 的发生率呈现上升的趋势^[1-2]。目前学者对于 PTOA 的自然演变过程不甚了解, 但由于创伤的作用, 导致的关节软骨的降解速度远大于合成速度已成为 PTOA 的重要病理机制之一^[2-4]。白细胞介素-1(IL-1)是一种常见的促炎因子, 能够通过特异性的结合于软骨表面的 IL-1 受体, 促进软骨降解, 并分解细胞外基质, 是 OA 发生、发展过程中的中心环节^[5-7]。白细胞介素-1 受体拮抗蛋白(interleukin-1 receptor antagonist protein, IL1RA)是 IL-1 天然拮抗剂, 能阻断 IL-1 与其受体的结合, 进而抑制 IL-1 α/β 对软骨的破坏。研究已经显示 IL1RA 对 OA 具有治疗作用^[8], 但对于 PTOA 的治疗作用报道较少, 因此本研究将对此展开研究。

1 材料与方法

1.1 实验动物 50 只体质量 200~250 g 的清洁级健康成年 SD 大鼠购自北京维通利华实验动物有限公司, 均在(23±2)℃的室内温度内自由饮食和饮水。

1.2 主要试剂与仪器 细胞裂解液购自北京普利莱基因技术有限公司; 超敏发光液购自赛默飞世尔科技(中国)有限公司; PVDF 膜购自美国 Millipore 公司; 兔抗 MMP-1、MMP-13、ADAMTs-4、ADAMTs-5、TIMP-1、TIMP-3 及 GAPDH 多克隆抗体均购自美国 Abcam 公司; II 型胶原酶购自美国 Gibco 公司; IL-1 β 、IL-8 及 TNF- α ELISA 试剂盒均购自武汉博士德生物技术有限公司。Chemi DocTM XRS+ 超高灵敏度化学发光成像系统、CFX Connect™ 实时荧光 PCR 仪购自伯乐生命医学产品(上海)有限公司; UV-1600PC 型紫外分光光度计购自上海美谱达仪器有限公司。

1.3 方法

1.3.1 PTOA 大鼠模型的复制、分组及给药 参考文献[1, 3], 采用前交叉韧带切断(ACLT)复制 PTOA 大鼠模型。将造模成功的大鼠分为模型组, IL1RA 低、中、高剂量组(10、20、40 mg/mL), 另外将只打开关节腔的大鼠设立为假手术组, 每组 10 只。造模成功后每天按分组情况进行大鼠关节腔注射, 连续 14 d。将大鼠处死, 取关节软骨置于-80℃冰箱待测。

1.3.2 ELISA 检测软骨组织中 IL-1 β 、IL-8 及 TNF- α 水平 取适量软骨组织, 匀浆后加入细胞裂解液裂解, 离心取上清液, 按 IL-1 β 、IL-8 及 TNF- α ELISA 试剂盒说明书测定 IL-1 β 、IL-8 及 TNF- α 水平。

1.3.3 Realtime PCR 法检测 COL-II、Aggrecan、MMP-1、MMP-13、ADAMTs-4、ADAMTs-5 mRNA 的表达 将适量软骨组织匀浆后, 加入 Trizol 裂解液, 并采用 Trizol 法抽提总 RNA。紫外分光光度计测定 RNA 纯度, 当 OA_{260nm}/OA_{280nm} 比值在 1.8~2.1, 根据逆转录试剂盒说明书逆转录 RNA, 最后根据 Realtime PCR 扩增试剂盒检测 RNA。扩增结果利用 2^{- $\Delta\Delta$ CT} 法进行分析。反应条件: 95℃ 预变性 30 s, 95℃ 变性 5 s, 60℃ 退火 25 s, 45 个循环。

1.3.4 Western blot 检测软骨组织中 MMP-1、MMP-13、ADAMTs-4、ADAMTs-5、TIMP-1 及 TIMP-3 蛋白的表达 将适量软骨组织匀浆后, 加入细胞裂解液裂解组织, 离心收获上清液。测定上清液蛋白浓度, 并定量。制作浓缩胶及分离胶, 上样, 进行凝胶电泳, 转 PVDF 膜, 2% BSA 室温封闭 1 h, 一抗(兔抗 MMP-1、MMP-13、ADAMTs-4、ADAMTs-5、TIMP-1、TIMP-3 及 GAPDH 多克隆抗体)4℃ 孵育过夜, 二抗室温孵育, 加入曝光液后, 在凝胶成像系统中报告, 并根据 Image J 软件分析电泳条带灰度值。

1.4 统计学处理 采用 SPSS22.0 统计软件进行分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 *t* 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠软骨组织中 IL-1 β 、IL-8 及 TNF- α 水平 与假手术组比较, 模型组软骨组织中 IL-1 β 、IL-8 及 TNF- α 水平明显提高($P < 0.01$); 与模型组比较, IL1RA 低、中、高剂量组软骨组织中 IL-1 β 、IL-8 及 TNF- α 水平明显降低($P < 0.01$), 见表 1。

表 1 各组大鼠软骨组织中 IL-1 β 、IL-8 及 TNF- α 水平 ($\bar{x} \pm s, n=10, \text{pg/mL}$)

组别	IL-1 β	IL-8	TNF- α
假手术组	4.58±0.54	6.42±0.67	5.18±0.55
模型组	17.32±2.13*	19.44±2.08*	26.78±2.94*
低剂量组	13.20±1.42#	15.37±1.78#	20.04±2.00#
中剂量组	9.28±1.05#	10.76±1.34#	13.15±1.54#
高剂量组	5.93±0.72#	7.24±0.73#	7.41±0.75#

*: $P < 0.01$, 与假手术组比较; #: $P < 0.01$, 与模型组比较

2.2 各组大鼠软骨组织中 COL-II、Aggrecan mRNA

NA 的表达 与假手术组比较,模型组软骨组织中 COL- II、Aggrecan mRNA 表达明显下调($P<0.01$);与模型组比较,IL1RA 低、中、高剂量组软骨组织中 COL- II、Aggrecan mRNA 表达明显上调($P<0.01$),见表 2。

2.3 各组大鼠软骨组织中 MMP-1、MMP-13、ADAMTs-4、ADAMTs-5 mRNA 的表达 与假手术组比较,模型组软骨组织中 MMP-1、MMP-13、ADAMTs-4、ADAMTs-5 mRNA 表达明显上调($P<0.01$);与模型组比较,IL1RA 低、中、高剂量组软骨组织中 MMP-1、MMP-13、ADAMTs-4、ADAMTs-5

mRNA 表达明显下调($P<0.01$),见表 3。

表 2 各组大鼠软骨组织中 COL- II、Aggrecan mRNA 表达的变化($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	COL- II	Aggrecan
假手术组	1.00±0.00	1.00±0.00
模型组	0.28±0.03*	0.32±0.03*
低剂量组	0.57±0.06#	0.55±0.05#
中剂量组	0.74±0.07#	0.76±0.07#
高剂量组	0.95±0.09#	0.94±0.09#

*: $P<0.01$,与假手术组比较;#: $P<0.01$,与模型组比较

表 3 各组大鼠软骨组织中 MMP-1、MMP-13、ADAMTs-4、ADAMTs-5 mRNA 表达情况($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	MMP-1	MMP-13	ADAMTs-4	ADAMTs-5
假手术组	1.00±0.00	1.00±0.00	1.00±0.00	1.00±0.00
模型组	3.20±0.33*	2.85±0.23*	3.54±0.34*	3.13±0.31*
低剂量组	2.43±0.21#	2.34±0.21#	2.80±0.28#	2.42±0.22#
中剂量组	1.87±0.13#	1.82±0.18#	2.01±0.20#	1.89±0.19#
高剂量组	1.25±0.10#	1.33±0.12#	1.29±0.12#	1.40±0.14#

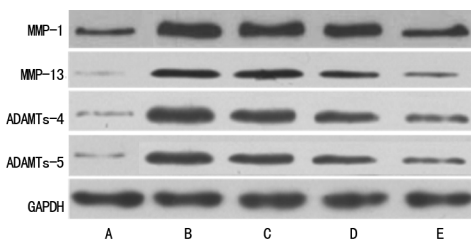
*: $P<0.01$,与假手术组比较;#: $P<0.01$,与模型组比较

表 4 各组大鼠软骨组织中 MMP-1、MMP-13、ADAMTs-4、ADAMTs-5 蛋白表达情况($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	MMP-1	MMP-13	ADAMTs-4	ADAMTs-5
假手术组	0.24±0.02	0.06±0.00	0.08±0.00	0.08±0.01
模型组	1.25±0.11*	0.44±0.04*	1.11±0.10*	0.95±0.09*
低剂量组	1.15±0.10	0.43±0.04	0.98±0.10#	0.56±0.05#
中剂量组	1.10±0.10#	0.30±0.03#	0.74±0.07#	0.41±0.04#
高剂量组	0.55±0.05#	0.18±0.01#	0.30±0.01#	0.20±0.02#

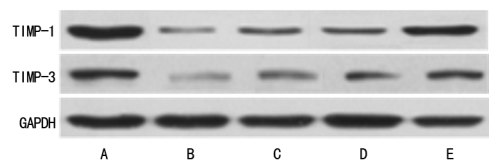
*: $P<0.01$,与假手术组比较;#: $P<0.01$,与模型组比较

2.4 各组大鼠软骨组织中 MMP-1、MMP-13、ADAMTs-4、ADAMTs-5 蛋白的表达 与假手术组比较,模型组软骨组织中 MMP-1、MMP-13、ADAMTs-4、ADAMTs-5 蛋白表达明显上调($P<0.01$);与模型组比较,IL1RA 低、中、高剂量组软骨组织中 ADAMTs-4、ADAMTs-5 蛋白表达明显下调($P<0.01$),IL1RA 中、高剂量组软骨组织中 MMP-1、MMP-13 蛋白表达明显下调($P<0.01$),见图 1、表 4。



A:假手术组;B:模型组;C:IL1RA 低剂量组;D:IL1RA 中剂量组;E:IL1RA 高剂量组

图 1 各组大鼠软骨组织中 MMP-1、MMP-13、ADAMTs-4、ADAMTs-5 蛋白表达的变化



A:假手术组;B:模型组;C:IL1RA 低剂量组;D:IL1RA 中剂量组;E:IL1RA 高剂量组

图 2 各组大鼠软骨组织中 TIMP-1、TIMP-3 蛋白表达情况

表 5 各组大鼠软骨组织中 TIMP-1、TIMP-3 蛋白表达情况($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	TIMP-1	TIMP-3
假手术组	1.08±0.10	0.47±0.05
模型组	0.08±0.01*	0.06±0.00*
低剂量组	0.17±0.01#	0.12±0.01#
中剂量组	0.20±0.02#	0.18±0.02#
高剂量组	0.88±0.08#	0.28±0.02#

*: $P<0.01$,与假手术组比较;#: $P<0.01$,与模型组比较

2.5 各组大鼠软骨组织中 TIMP-1、TIMP-3 蛋白表

达情况 与假手术组比较,模型组软骨组织中 TIMP-1、TIMP-3 蛋白表达明显下调($P<0.01$);与模型组比较,IL1RA 低、中、高剂量组软骨组织中 TIMP-1、TIMP-3 蛋白表达明显上调($P<0.05$),见图 2、表 5。

3 讨 论

IL1RA 作为 IL-1 的天然拮抗剂,能够特异性的结合于软骨表面的 IL-1 受体,进而抑制 IL-1 α/β 对软骨的破坏作用^[8]。研究显示在大鼠关节软骨急性损伤期关节腔注射 IL1RA,能明显上调 miR-27b、miR-140、miR-125b 进而抑制软骨的分解^[9]。而且 IL1RA 能明显降低 ACLT 复制的 PTOA 大鼠的软骨及滑膜评分,同时抑制软骨细胞凋亡^[10]。进而提示 IL1RA 对 PTOA 大鼠具有一定治疗作用,但具体的作用机制不甚了解。本研究首先通过 ACLT 构建 PTOA 大鼠模型,进而检测不同剂量的 IL1RA 对 PTOA 大鼠关节软骨中炎症因子水平的影响,结果表明 IL1RA 能明显降低 IL-1 β 、IL-8 及 TNF- α 水平,IL-1 β 、IL-8 及 TNF- α 主要是由活化的单核-巨噬细胞分泌产生的促炎因子,其中 TNF- α 不仅能够破坏软骨,还可以促进 IL-1 β 、IL-8 的分泌进而加重软骨的损伤,而且 IL-1 β 、IL-8 及 TNF- α 能够刺激细胞外基质降解酶的分泌加速细胞外基质的降解,进而加重软骨损伤。研究显示人 PTOA 或动物模型 PTOA 中 IL-1 β 、IL-8 及 TNF- α 的水平均明显提高^[11-12],因此本研究结果表明 IL1RA 能明显的通过减少 IL-1 β 、IL-8 及 TNF- α 分泌,进而抑制 PTOA 大鼠软骨损伤。

软骨主要由软骨细胞及细胞外基质组成,后者主要由胶原蛋白及 Aggrecan 组成。其中 COL-Ⅱ 占软骨胶原蛋白 90% 以上,维持着软骨的三维网状结构,为细胞外基质提供支架及弹性。蛋白多糖含有大量亲水性的支链,能够维持着软骨的润滑及抗压作用。当软骨降解速度远大于合成速度后,说明软骨细胞分泌大量的降解酶,如 MMPs 及 ADAMTs。MMPs 是一种依赖于 Zn²⁺ 的蛋白水解酶,其中的胶原酶 MMP-1 能够降解 I、II、III、VII、VIII、X 型胶原酶,MMP-13 不仅能够降解软骨特异性 COL-Ⅱ 及新生的 COL-Ⅱ,还能够激活其他 MMPs,发挥其对胶原的降解作用。ADAMTs 是一种新型的金属蛋白酶,对 Aggrecan 具有明显的降解作用。目前研究最多的 ADAMTs 为 ADAMTs-4 及 ADAMTs-5,二者在软骨、心脏、脑等多种组织器官中有表达,并有多个 Aggrecan 水解酶位点,同时受 IL-1 等炎症因子的影响。另外细胞外基质的降解速度大于合成速度,也源自于 TIMPs 分泌量的减少。TIMPs 不仅能够与 1:1 的比例与 MMPs 特异性结合,还是 ADAMTs 内源性的抑制剂。其中 TIMP-1 能与 MMP-1 及 MMP-13 结合抑制二者的表达,TIMP-3 能与 ADAMTs-4 及 ADAMTs-5 结合抑

制二者的表达。研究显示 ADAMTs-4 及 ADAMTs-5 基因敲除的小鼠 OA 能得到明显改善,而且体外通过 IL-1 β 诱导软骨细胞后并敲除 ADAMTs-4 及 ADAMTs-5 表达,能明显的抑制 Aggrecan 的降解^[13]。TIMP-1 及 TIMP-3 在 OA 体外或体内模型中表达量均明显降低^[14-15]。因此通过上调 TIMP-1 及 TIMP-3 表达,进而抑制 MMP-1、MMP-13、ADAMTs-4 及 ADAMTs-5 表达,能明显抑制 COL-Ⅱ 及 Aggrecan 含量的减少,进而降低软骨细胞外基质的降解速度。所以本研究进一步探讨 IL1RA 对 PTOA 大鼠软骨组织中胶原蛋白、Aggrecan、细胞外基质合成与降解蛋白表达的影响,结果表明 IL1RA 能明显上调 COL-Ⅱ mRNA、Aggrecan mRNA、TIMP-1 蛋白、TIMP-3 蛋白表达,下调 MMP-1、MMP-13、ADAMTs-4、ADAMTs-5 mRNA 及蛋白表达,进而维持软骨基本结构。

综上所述,IL1RA 能够通过促进软骨细胞外基质合成,抑制基质降解,进而抑制 PTOA 大鼠软骨损伤。

参考文献

- [1] RACINE J, AARON R K. Post-traumatic osteoarthritis after ACL injury[J]. R I Med J, 2014, 97(11): 25-28.
- [2] CARBONE A, RODEO S. Review of current understanding of post-traumatic osteoarthritis resulting from sports injuries[J]. J Orthop Res, 2017, 35(3): 397-405.
- [3] DARE D, RODEO S. Mechanisms of post-traumatic osteoarthritis after ACL injury [J]. Curr Rheumatol Rep, 2014, 16(10): 448.
- [4] BLAKER C L, CLARKE E C, LITTLE C B. Using mouse models to investigate the pathophysiology, treatment, and prevention of post-traumatic osteoarthritis[J]. J Orthop Res, 2017, 35(3): 424-439.
- [5] LEE A S, ELLMAN M B, YAN D, et al. A current review of molecular mechanisms regarding osteoarthritis and pain [J]. Gene, 2013, 527(2): 440-447.
- [6] 苏晓恩, 孔志强, 朱娟, 等. 膝关节骨关节炎软骨中 YKL-40、IL-1 β 的表达及相关性探讨[J]. 重庆医学, 2017, 46(4): 480-482.
- [7] 帅明, 林荔军, 林昭伟, 等. IL-1 β 、HIF-1 α 和 VEGF 在兔膝关节骨性关节炎模型滑膜中的表达[J]. 中国老年学杂志, 2013, 33(10): 2311-2313.
- [8] JOTANOVIC Z, MIHELIC R, SESTAN B, et al. Role of interleukin-1 inhibitors in osteoarthritis: an evidence-based review[J]. Drugs Aging, 2012, 29(5): 343-358.
- [9] GENEMARAS A A, REINER T, HUANG C Y, et al. Early intervention with Interleukin-1 Receptor Antagonist Protein modulates catabolic microRNA and mRNA expression in cartilage after impact injury[J]. Osteoarthritis Cartilage, 2015, 23(11): 2036-2044.
- [10] ELSAID K A, ZHANG L, SHAMAN Z, et al. The impact of early intra-articular administration (下转第 916 页)

通过 MHC-I 类分子增强 HBV 特异性 CD8⁺ T 淋巴细胞的免疫杀伤作用可进一步证实,从而为打破乙型肝炎免疫耐受提供理论依据。

参考文献

- [1] ZEHN D, UTZSCHNEIDER D T, THIMME R. Immune-surveillance through exhausted effector T-cells[J]. *Curr Opin Virol*, 2016, 16: 49-54.
- [2] CHEN Y, CHENG M, TIAN Z. Hepatitis B virus down-regulates expressions of MHC class I molecules on hepatoplastoma cell line[J]. *Cell Mol Immunol*, 2006, 3(5): 373-378.
- [3] BISWAS A, MEISSNER T B, KAWAI T, et al. Cutting edge: impaired MHC class I expression in mice deficient for Nlr5/class I transactivator[J]. *J Immunol*, 2012, 189(2): 516-520.
- [4] ROBBINS G R, TRUAX A D, DAVIS B K, et al. Regulation of class I major histocompatibility complex (MHC) by nucleotide-binding domain, leucine-rich repeat-containing (NLR) proteins[J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(29): 24294-24303.
- [5] CHELBI S T, GUARDA G. NLRC5, a promising new entry in tumor immunology[J]. *J Immun Cancer*, 2016, 4: 39.
- [6] NEERINCX A, JAKOBSHAGEN K, UTERMOHLEN O, et al. The N-terminal domain of NLRC5 confers transcriptional activity for MHC class I and II gene expression[J]. *J Immunol*, 2014, 193(6): 3090-3100.
- [7] NEERINCX A, LAUTZ K, MENNING M, et al. A role for the human nucleotide-binding domain, leucine-rich repeat-containing family member NLRC5 in antiviral responses[J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(34): 26223-26232.
- [8] YAO Y, QIAN Y. Expression regulation and function of NLRC5[J]. *Protein Cell*, 2013, 4(3): 168-175.
- [9] STAEHLI F, LUDIGS K, HEINZ L X, et al. NLRC5 deficiency selectively impairs MHC class I-dependent lym-

phocyte killing by cytotoxic T cells[J]. *J Immunol*, 2012, 188(8): 3820-3828.

- [10] BENKO S, KOVACS E G, HEZEL F, et al. NLRC5 Functions beyond MHC-I regulation-what do we know so far? [J]. *Front Immunol*, 2017, 8: 150.
- [11] BENKO S, MAGALHAES J G, PHILPOTT D J, et al. NLRC5 limits the activation of inflammatory pathways[J]. *J Immunol*, 2010, 185(3): 1681-1691.
- [12] MEISSNER T B, LI A, KOBAYASHI K S. NLRC5: a newly discovered MHC class I transactivator (CITA) [J]. *Microbes Infect*, 2012, 14(6): 477-484.
- [13] YEUNG K S, CHUNG B H, CHOUFANI S, et al. Genome-wide DNA methylation analysis of chinese patients with systemic lupus erythematosus identified hypomethylation in genes related to the type I interferon pathway [J]. *PLoS One*, 2017, 12(1): e0169553.
- [14] BERTOLETTI A, FERRARI C. Adaptive immunity in HBV infection[J]. *J Hepatol*, 2016, 64(1 Suppl): S71-83.
- [15] LAN P, ZHANG C, HAN Q, et al. Therapeutic recovery of hepatitis B virus (HBV)-induced hepatocyte-intrinsic immune defect reverses systemic adaptive immune tolerance[J]. *Hepatology*, 2013, 58(1): 73-85.
- [16] DOWNS I, VIJAYAN S, SIDIQ T, et al. CITA/NLRC5: a critical transcriptional regulator of MHC class I gene expression[J]. *Bio Factors*, 2016, 42(4): 349-357.
- [17] LUDIGS K, SEGUIN-ESTEVEZ Q, LEMEILLE S, et al. NLRC5 exclusively transactivates MHC class I and related genes through a distinctive SXY module[J]. *PLoS Genet*, 2015, 11(3): e1005088.
- [18] LUPFER C R, STOKES K L, KURIAKOSE T, et al. Deficiency of the NOD-Like receptor NLRC5 results in decreased CD8⁺ T cell function and impaired viral clearance [J]. *J Virol*, 2017, 91(17): pii: e00377.

(收稿日期: 2018-10-18 修回日期: 2018-12-18)

(上接第 912 页)

- of interleukin-1 receptor antagonist on lubricin metabolism and cartilage degeneration in an anterior cruciate ligament transection model [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2015, 23(1): 114-121.
- [11] LIEBERTHAL J, SAMBAMURTHY N, SCANZELLO C R. Inflammation in joint injury and post-traumatic osteoarthritis [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2015, 23(11): 1825-1834.
 - [12] HUEBNER K D, SHRIVE N G, FRANK C B. New surgical model of post-traumatic osteoarthritis: isolated intra-articular bone injury in the rabbit [J]. *J Orthop Res*, 2013, 31(6): 914-920.

- [13] YANG C Y, CHANALARIS A, TROEBERG L. ADAMTS and ADAM metalloproteinases in osteoarthritis - looking beyond the 'usual suspects' [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2017, 25(7): 1000-1009.
- [14] 白笙君, 陈传好, 王伟. MMP-2、MMP-3、MMP-9、TIMP-3 及 Col-II 因子在兔软骨细胞损伤后的表达变化[J]. *基因组学与应用生物学*, 2017, 36(2): 419-425.
- [15] 安梅, 孙和炎, 卢锦森, 等. 基质金属蛋白酶 1 及其抑制剂在白藜芦醇治疗佐剂性关节炎中的表达[J]. *安徽医科大学学报*, 2014, 49(6): 701-705.

(收稿日期: 2018-10-18 修回日期: 2018-12-21)