

IL-22 对类风湿关节炎成纤维样滑膜细胞凋亡的影响

刘 梦, 刘 岩, 杨梦如, 莫碧瑶, 潘云峰
(中山大学附属第三医院风湿免疫科, 广东 广州 510630)

摘要:【目的】探讨 IL-22 对类风湿关节炎(RA)成纤维样滑膜细胞(FLS)凋亡的影响。【方法】收集行关节置换术或关节镜下滑膜切除术患者的滑膜组织, 组织块法培养 FLS。利用荧光定量 RT-PCR(qRT-PCR)检测 Bcl-2 mRNA 和 Bcl-XL mRNA、Western Blotting 检测 Bcl-2 蛋白在 RA、骨关节炎(OA)和创伤(Trauma)患者中 FLS 的表达水平。将 RA-FLS 以一氧化氮(NO)供体硝普钠(SNP)和/或重组人源性 IL-22(rhIL-22)等处理 24 h, 流式细胞术分析检测凋亡。rhIL-22 以不同的浓度(0、1、10、100 ng/mL)作用于 RA-FLS 和 OA-FLS 24 h, Western Blotting 检测 Bcl-2 蛋白表达水平的变化。【结果】RA-FLS 中 Bcl-2 mRNA($P < 0.05$)、Bcl-XL mRNA($P < 0.01$)和 Bcl-2 蛋白($P < 0.01$)的表达水平明显高于与 OA-FLS 组和 Trauma-FLS 组。流式细胞术结果显示:与对照组相比, rhIL-22 组细胞凋亡率未见明显变化($P > 0.05$), SNP 组 RA-FLS 细胞凋亡率明显升高($P < 0.01$);与 SNP 组相比, SNP+rhIL-22 组细胞凋亡率明显下降($P < 0.01$)。rhIL-22 可明显上调 RA-FLS 和 OA-FLS 中 Bcl-2 的蛋白表达水平($P < 0.05$), 但 RA-FLS 对 rhIL-22 的作用更敏感。【结论】IL-22 可抑制由 SNP 诱导的 RA-FLS 细胞凋亡, 其机制可能部分与上调 RA-FLS 中 Bcl-2 的表达有关。

关键词: 类风湿关节炎; 成纤维样滑膜细胞; IL-22; 凋亡; Bcl-2

中图分类号: R593 文献标志码: A 文章编号: 1672-3554(2016)06-0852-06

Effects of IL-22 on Apoptosis of Rheumatoid Arthritis Fibroblast-like Synoviocytes

LIU Meng¹, LIU Yan¹, YANG Meng-ru¹, MO Bi-yao¹, PAN Yun-feng¹

(Department of Rheumatoid and Immunology, The Third Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510630, China)

Corresponding to: PAN Yun-feng, E-mail: panyunfeng@medmail.com.cn

Abstract: 【Objective】 To investigate the effect of interleukin (IL)-22 on the apoptosis of rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes (RA-FLS). 【Methods】 Synovium tissues collected and isolated from patients who had joint replacement surgery or arthroscopy, which were cultured by tissue culture method. Bcl-2 mRNA and Bcl-XL mRNA expression in FLS (RA, Osteoarthritis, Trauma) were determined by qRT-PCR. Bcl-2 protein expression in FLS were detected by Western blotting. RA-FLS were treated with nitric oxide (NO) donor sodium nitroprusside (SNP) in the present or absence of rhIL-22, RA-FLS apoptosis was analyzed by flow cytometry. Effects of different concentrations of rhIL-22(0, 1, 10, 100 ng/mL) on the expression of Bcl-2 protein level in RA-FLS and OA-FLS were detected by Western Blotting. 【Results】 The Bcl-2 mRNA ($P < 0.05$), Bcl-XL mRNA ($P < 0.01$) and Bcl-2 protein ($P < 0.01$) were increased in RA-FLS compared with OA-FLS and Trauma-FLS. Flow cytometry assay showed rhIL-22 did not affect RA-FLS apoptosis compared with control group ($P > 0.05$), SNP induced RA-FLS apoptosis obviously ($P < 0.01$), rhIL-22 prevented RA-FLS apoptosis in the presence of SNP ($P < 0.01$). rhIL-22 could up-regulate the expression of Bcl-2 in both RA-FLS and OA-FLS ($P < 0.05$), but RA-FLS were more sensitive to rhIL-22. 【Conclusion】 IL-22 can protect RA-FLS from SNP-induced apoptosis, at least in partly by up-regulating the expression of Bcl-2.

Key words: rheumatoid arthritis; fibroblast-like synoviocytes; interleukin-22; apoptosis; Bcl-2

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2016, 37(6): 852-857]

收稿日期: 2015-11-13

基金项目: 广东省自然科学基金项目(2014A030313080)

作者简介: 刘梦, 硕士, 研究方向: 风湿免疫, E-mail: lm_fsk@163.com; 潘云峰, 通信作者, 主任医师, 硕士生导师, E-mail: panyunfeng@medmail.com.cn

类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是一种以多关节炎为主的慢性系统性自身免疫性疾病,基本病理改变是滑膜增生,其中成纤维样滑膜细胞(fibroblasts-like synoviocytes, FLS)是类风湿关节炎滑膜细胞的主要成分^[1]。大量研究表明在RA中,FLS的细胞特性发生了根本性改变^[2],被称为“类肿瘤样细胞”或“持续活化的细胞”^[3]。白介素22(interleukin-22, IL-22)是IL-10家族成员之一^[4],作为一种新型的细胞因子,其在肿瘤、感染性疾病和自身免疫性疾病中的作用机制,是目前研究的热点之一^[5]。IL-22在多种癌细胞(胰腺癌、结肠癌、肝细胞癌、非小细胞肺癌等)中可上调其下游抗凋亡基因(Bcl-2, Bcl-XL)的表达,抑制癌细胞凋亡,从而促进癌症的进展^[6-9]。鉴于RA-FLS类肿瘤细胞的特性,本研究首次探讨IL-22对RA-FLS凋亡的影响。

1 材料与方法

1.1 标本采集

滑膜组织来自2015年1月至2015年9月中山大附属第三医院行膝关节置换术或关节镜下滑膜清理术的患者。其中,类风湿关节炎(RA)7例,年龄32~81岁,平均年龄52(S=7)岁,其中女性6名,诊断均符合1987年美国风湿病协会(ACR)修订的诊断标准;骨关节炎(osteoarthritis, OA)患者7例,关节创伤患者(Trauma)6例,排除感染、肿瘤及其他类型的结缔组织病等相关疾病。标本的收集已得到所有患者的知情同意。

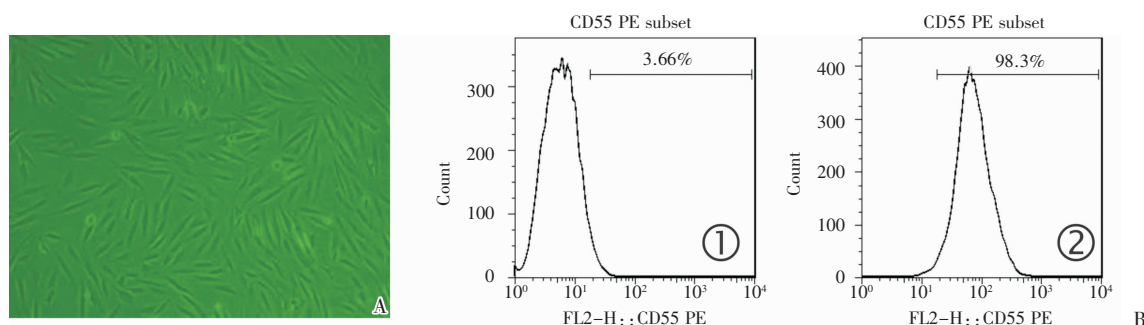
1.2 主要仪器和试剂

流式细胞仪(BD FACScalibur), qRT-PCR仪

(ABI 7500), 反转录仪(Applied Biosystem PCR SYSTEM9700), 酶标仪(Thermo), 化学发光成像系统 western blot 成像分析(TANON 5200); 胎牛血清(Gibco)、高糖DMEM无血清培养基(Gibco)、Alexa Fluor 488 annexin V and PI 凋亡检测试剂盒均购自英潍捷基上海贸易有限公司; 抗CD55-FITC抗体、mouseIgG1-FITC抗体均购自美国Becton Dickinson(BD)公司; rhIL-22(R&D, 广州新晋生物科技有限公司); 总RNA提取试剂(RNAiso Plus)、PrimeScript™ RT reagent Kit with gDNA Eraser(Perfect Real Time)、SYBR® Premix Ex Taq™ II(Tli RNaseH Plus)均购自TaKaRa宝生生物公司; 兔抗人Bcl-2抗体、兔抗人β-actin抗体(Cell Signaling Technology)均购自上海优宁维生物科技有限公司, HRP标记羊抗兔二抗(北京博奥森), 全蛋白提取试剂盒、BCA蛋白含量检测试剂盒、加强型ECL检测试剂盒均购自南京凯基生物技术股份有限公司。

1.3 方法

1.3.1 细胞培养与鉴定 利用组织块法培养细胞,经消化传代后获得较纯的成纤维样滑膜细胞(FLS),RA-FLS细胞鉴定包括光学相差显微镜下观察细胞生长形态和流式细胞术检测CD55阳性细胞率,鉴定结果如图1所示:原代培养第2~3天即可见细胞从组织块周边游出,酶消化法进行传代,长至第3代后以长梭形的成纤维样滑膜细胞为主(图1A),流式细胞术检测第3代细胞表面CD55阳性表达率约98.3%(图1B),提示大多数细胞均为成纤维样滑膜细胞,本实验使用生长状态较好的第3~5代细胞。



A: Original magnification: $\times 10$; B: CD55 expression of passage 3 RA-FLS detected by flow cytometry. ①control group; ②CD55 expression.

图1 RA-FLS光镜下细胞形态图和流式细胞图

Fig.1 RA-FLS under high microscope and flow cytometry

1.3.2 荧光定量 PCR 检测 RA-FLS、OA-FLS 和 Trauma-FLS 中 Bcl-2 和 Bcl-XL mRNA 的表达 三组 FLS 均以 1×10^4 /孔种于 6 孔板,待细胞长至 80%,每孔加入 RNAiso Plus 1 mL,提取细胞总 RNA 并溶于 20 μ L RNase-free H₂O,取 2 μ L 总 RNA 样品于紫外分光光度计检测总 RNA 含量。按 PrimeScript™ RT reagent Kit (Perfect Real Time) 试剂盒说明书行反转录,反转录条件如下:37℃ 15 min,85℃ 5 s。反转录反应产物按 SYBR® Premix Ex Taq™ II (Tli RNaseH Plus) 试剂盒说明书,行 qPCR 反应。Bcl-2 上游引物序列 GCTGAC AGGGTCTATGGC,下游引物序列 GAGAATGTTGG CGTCTTG,Bcl-XL 上游引物序列 CAACCCATCCT GGCACCT,下游引物序列 ACCGCAGTTCAAACCTC GTC, β -actin 上游引物序列 AGTTGCGTTACACCC TTTC,下游引物序列 CACCTTCACCGTTCAGT,反应体系总体积为 20 μ L,含 cDNA 模板 2.0 μ L,SYBR® Premix Ex Taq™ II (Tli RNaseH Plus)(2 \times) 10.0 μ L,PCR 上游引物(10 μ mol/L)和下游引物(10 μ mol/L)各 0.8 μ L,ROX Reference Dye(50 \times) 0.4 μ L,dH₂O 6.0 μ L。使用 ABI PRISM7000,设置反应程序:Stage1:预变性,95℃ 30 s 1 个循环;Stage2:延伸,95℃ 5 s,60℃ 34 s,40 个循环;Stage3:退火,95℃ 15 s,60℃ 60 s,95℃ 15 s,1 个循环。反应结束后分析各样本 CT 值,并计算 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 值。

1.3.3 Western blotting 检测 RA-FLS、OA-FLS 和 Trauma-FLS 中 Bcl-2 的蛋白表达水平 收集 RA-FLS、OA-FLS 和 Trauma-FLS,用总蛋白提取试剂盒提取总蛋白,BCA 法检测蛋白浓度后,用 Western blotting 检测 Bcl-2 蛋白表达水平,即取 20 μ g 总蛋白,经 10%SDS-PAGE 电泳分离,电转印至 PVDF 膜,封闭后加入一抗(抗 β -actin 1:1000,抗 Bcl-2 1:1000,5%BSA 抗体稀释液稀释),4℃摇床孵育过夜,加 HRP 标记二抗(1:1000-1:10000,5%BSA 抗体稀释液稀释)孵育 1 h,最后利用增强化学发光液(enhanced chemiluminescence, ECL)显色,化学发光成像系统 Western blot 成像分析(TANON 5200)曝光,ImageJ 软件分析各样本灰度值(Integrated option density, IOD),以观察 RA、OA 和创伤组间 Bcl-2 蛋白表达水平。

1.3.4 流式细胞术检测细胞凋亡 RA-FLS 以 1×10^4 /孔种于 6 孔板,待细胞长至 80%后分别加入

SNP 和/或 rhIL-22,实验分 4 组:空白对照组、100 ng/mL rhIL-22 组、1 mmol/L SNP 组、1 mmol/L SNP+100 ng/mL rhIL-22 组,作用 24 h 后收集细胞,用预冷 PBS 冲洗 2 次,加入 100 μ L 结合缓冲液(1 \times Binding buffer)重悬细胞,然后加入 Annexin V 5 μ L 和 PI 1 μ L,室温避光孵育 15 min 后,加入 400 μ L 结合缓冲液(1 \times Binding buffer),流式细胞仪检测细胞凋亡,利用 FlowJo7.6 软件分析凋亡结果,其中 Q1:(AnnexinV-FITC)-/PI+为坏死细胞;Q2:(AnnexinV-FITC)+/PI+为晚期凋亡细胞;Q3:(AnnexinV-FITC)+/PI-为早期凋亡细胞;Q4:(AnnexinV-FITC)-/PI-为活细胞。

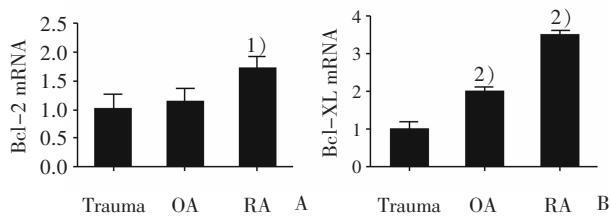
1.3.5 Western blotting 检测 rhIL-22 作用于 RA-FLS 和 OA-FLS 时 Bcl-2 蛋白表达水平的变化 RA-FLS 和 OA-FLS 以 1×10^4 /孔种于 6 孔板,待细胞长至 80%后,加入不同浓度(0、1、10、100 ng/mL)的 rhIL-22 作用 24 h,其中实验分 4 组:空白对照组、1 ng/mL rhIL-22 组、10 ng/mL rhIL-22 组、100 ng/mL rhIL-22 组,收集蛋白及 Western Blotting 步骤按前述方法进行,蛋白上样量仍为 20 μ g,检测 RA-FLS 和 OA-FLS 细胞中 Bcl-2 蛋白表达水平。

1.3.6 统计分析 使用 SPSS20.0 软件分析数据,实验结果均以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,数据之间的比较使用单因素方差分析,两两之间比较采用 Bonferroni, $P < 0.05$ 代表有统计学意义。

2 结 果

2.1 Bcl-2 mRNA 和 Bcl-XL mRNA 在 RA-FLS 中表达高于 OA-FLS 和 Trauma-FLS

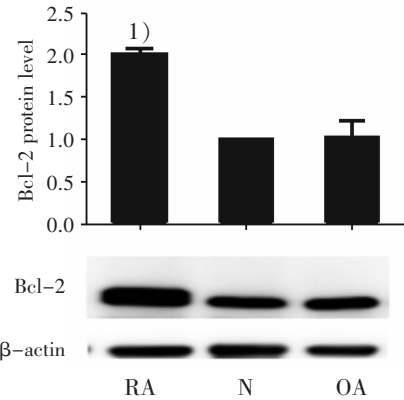
单因素方差分析结果显示,Bcl-2 和 Bcl-XL mRNA 在 RA-FLS、OA-FLS 和 Trauma-FLS 三组间的差异均有统计学意义($P < 0.05$,图 2)。进一步用 Bonferroni 比较两两之间的差异,发现 Bcl-2 mRNA 在 RA-FLS 中的表达高于 OA 组和创伤组(1.73 ± 0.24 vs 1.14 ± 0.23 , 1.73 ± 0.24 vs 1.02 ± 0.19 , $P < 0.05$),而 OA 组和创伤组间差异无统计学意义(1.14 ± 0.23 vs 1.02 ± 0.19 , $P > 0.05$);Bcl-XL mRNA 在 RA-FLS 中的表达高于 OA 组(3.52 ± 0.11 vs 2.02 ± 0.09 , 3.52 ± 0.11 vs 1.02 ± 0.20 , $P < 0.01$),OA 组高于创伤组(2.02 ± 0.09 vs 1.02 ± 0.20 , $P < 0.01$)。



A: Bcl-2 mRNA, $n = 4$, $F = 9.099$, $P = 0.015$; B: Bcl-XL mRNA, $n = 4$, $F = 235.496$, $P = 0.000$. 1) $P < 0.05$ vs Trauma-FLS and OA-FLS; 2) $P < 0.01$ vs Trauma-FLS

图 2 Bcl-2 mRNA 和 Bcl-XL mRNA 在 RA-FLS, OA-FLS 和 Trauma-FLS 中的表达水平

Fig.2 Expression of Bcl-2 mRNA and Bcl-XL mRNA in RA-FLS, OA-FLS and Trauma-FLS



$\bar{x} \pm s$, $n = 4$, $F = 68.059$, $P = 0.000$, 1) $P < 0.01$ vs Trauma

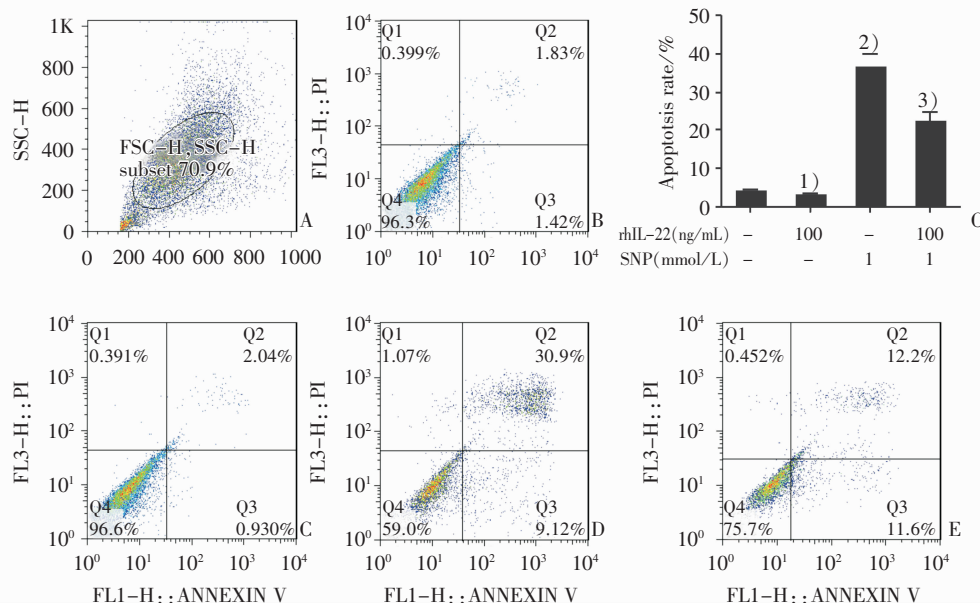
图 3 Bcl-2 蛋白在 RA、OA 和 Trauma 组中的表达水平
Fig.3 Expression of Bcl-2 in RA, OA and Trauma

2.2 Bcl-2 蛋白在 RA-FLS 中表达水平高于 OA-FLS 和 Trauma-FLS

单因素方差分析结果显示, Bcl-2 蛋白表达水平在三组间的差异有统计学意义 ($P < 0.01$, 图 3), 进一步用 Bonferroni 比较两两之间的差异, 发现 Bcl-2 蛋白在 RA-FLS 中的表达明显高于 OA 组和创伤组 (2.02 ± 0.10 vs 1.03 ± 0.18 , 2.02 ± 0.10 vs 1.00 ± 0.00 , $P < 0.01$), 而 OA 组和创伤组间差异无统计学意义 (1.03 ± 0.18 vs 1.00 ± 0.00 , $P > 0.05$), 与 qRT-PCR 结果一致。

2.3 流式细胞术检测细胞凋亡

流式细胞术检测结果如图 4 所示, 单因素方差分析结果显示: 作用 24 h 后, rhIL-22 组 RA-FLS 细胞凋亡率为 (2.96 ± 0.90)%, 与对照组相比 (4.06 ± 0.53)%, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), SNP 组细胞凋亡率为 (36.54 ± 3.41)%, 明显高于对照组 ($P < 0.01$); SNP+rhIL-22 组细胞凋亡率为 (22.30 ± 2.42)%, 与 SNP 组相比, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。



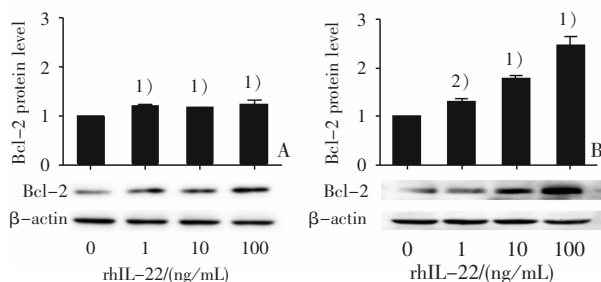
A: RA-FLS cells; B: Control group; C: 100 ng/mL rhIL-22 group; D: 1 mmol/L SNP; E: 1 mmol/L SNP+100 ng/mL rhIL-22. $\bar{x} \pm s$, $n = 4$. $F = 166.463$, $P = 0.000$. 1) $P > 0.05$ vs Control group; 2) $P < 0.01$ vs Control group; 3) $P < 0.01$ vs SNP group

图 4 各组 RA-FLS 凋亡率的流式细胞术检测分析图

Fig.4 The RA-FLS apoptosis rate of different groups

2.4 rhIL-22 作用于 RA-FLS 和 OA-FLS 时 Bcl-2 蛋白表达水平的变化

单因素方差分析结果显示,不同浓度(0、1、10、100 ng/mL)rhIL-22 分别作用于 OA-FLS 和 RA-FLS 24 h, Bcl-2 蛋白表达水平总体上差异均有统计学意义($P < 0.01$, 图 5)。其中对于 OA-FLS 来说,不同浓度组间用 Bonferroni 法两两比较,1、10、100 ng/mL rhIL-22 组 Bcl-2 蛋白表达水平均高于对照组 (1.21 ± 0.02 vs 1.00 ± 0.00 , 1.16 ± 0.02 vs 1.00 ± 0.00 , 1.23 ± 0.07 vs 1.00 ± 0.00 , $P < 0.01$), 而 1、10、100 ng/mL rhIL-22 组间 Bcl-2 蛋白表达水平差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 对于 RA-FLS 来说,不同浓度组间两两比较,1 ng/mL rhIL-22 组与对照组间差异无统计学意义 (1.31 ± 0.05 vs 1.00 ± 0.00 , $P > 0.05$), 10、100 ng/mL rhIL-22 组 Bcl-2 蛋白表达水平与对照组相比差异有统计学意义 (1.78 ± 0.10 vs 1.00 ± 0.00 , 2.48 ± 0.30 vs 1.00 ± 0.00 , $P < 0.01$), 1、10、100 ng/mL rhIL-22 组相互之间比较差异有统计学意义 (1.31 ± 0.05 vs 1.78 ± 0.10 , $P < 0.05$; 1.31 ± 0.05 vs 2.48 ± 0.30 , $P < 0.01$; 1.78 ± 0.10 vs 2.48 ± 0.30 , $P < 0.01$)。



$\bar{x} \pm s$, $n = 4$. A: OA-FLS, $F = 24.690$, $P = 0.000$; B: RA-FLS, $F = 48.626$, $P = 0.000$; 1) $P < 0.01$ vs Control group; 2) $P > 0.05$ vs Control group

图 5 不同浓度 rhIL-22 作用于 RA-FLS、OA-FLS 后 Bcl-2 蛋白表达水平变化

Fig.5 Effect of different concentration of rhIL-22 on Bcl-2 protein level in RA-FLS and OA-FLS

3 讨论

1983 年 Fassbender 等^[10]首次提出 RA-FLS 具有转化细胞特性,之后的研究不断发现其转化特性的证据,如 RA-FLS 体外培养时凋亡减少、过度增殖且具有侵袭特性^[11]、丧失接触性抑制^[12]、存在表观遗传学改变^[13]等,故 RA-FLS 常被称为“类肿

瘤样细胞”。本研究利用 RT-qPCR 法比较 RA 组、OA 组和创伤组 FLS 细胞中 Bcl-2 和 Bcl-XL mRNA 水平,结果显示 RA-FLS 中 Bcl-2 mRNA 和 Bcl-XL mRNA 的表达明显高于 OA 组和创伤组,Western blotting 也显示 RA-FLS 中 Bcl-2 蛋白水平显著高于 OA-FLS 和 Trauma-FLS,提示与 OA-FLS 和 Trauma-FLS 相比,RA-FLS 可能具有较强的抗凋亡能力。

IL-22 通过作用于细胞膜表面的异二聚体受体(IL-22R1 和 IL-10R2)从而激活胞质内的信号通路,不同于非特异性表达的 IL-10R2,IL-22R1 仅特异性的表达于非免疫细胞(如肝细胞、角质细胞和成纤维样细胞等)^[14],换言之,IL-22 不作用于免疫细胞,该特性使 IL-22 在各个领域(尤其是肿瘤领域)受到广泛的关注。IL-22 在类风湿关节炎中的作用也有一定的研究:外源性 IL-22 可促进 RA-FLS 增殖,激活 RA-FLS 细胞内多条信号通路(如 JAK/STAT3、MAPK (p38、ERK)、PI3K/Akt/mTOR)^[15-17]。而本课题组前期研究证实 Wnt/ β -catenin 通路、NF- κ B 通路、PI3K/Akt/mTOR 通路均与 RA-FLS 的生物活性相关(如细胞增殖、凋亡、迁移、侵袭等)^[18-20],鉴于 IL-22 在多种癌细胞的研究及 RA-FLS 的“类肿瘤样细胞特性”,IL-22 对 RA-FLS 细胞凋亡是否有调控作用,是否能影响 RA-FLS 细胞凋亡相关蛋白 Bcl-2 的表达,未有进一步的探讨,亦未见相关的研究报道。

SNP 是一种细胞凋亡诱导剂,其释放的一氧化氮(NO)能诱导多种细胞凋亡^[21]。本实验用 1.0 mmol/L 的 SNP 处理 RA-FLS 24 h 后,细胞凋亡率增加,而加入 100 ng/mL rhIL-22 后,RA-FLS 细胞凋亡率明显下降,提示 IL-22 可抑制 SNP 诱导的 RA-FLS 凋亡。本实验进一步探究 IL-22 对 RA-FLS 凋亡相关蛋白 Bcl-2 的影响,结果显示 rhIL-22 可明显上调 RA-FLS 和 OA-FLS 中 Bcl-2 的表达,与 OA-FLS 相比,相同浓度 rhIL-22 作用于 RA-FLS 后,Bcl-2 蛋白上调的水平更大,说明 RA-FLS 对 rhIL-22 的作用更敏感。值得注意的是,IL-22 发挥作用有组织特异性,之前研究者推测与组织细胞表面 IL-22R1 表达水平有关^[5];但研究显示 IL-22 mRNA 及蛋白水平、IL-22R1 蛋白水平在 RA-FLS 和 OA-FLS 中相近,IL-22 可促进 RA-FLS 增殖,对 OA-FLS 无明显作用^[17],结合本实验的研究结果,提示 IL-22 发挥作用的组织特异性,可能

不仅与组织细胞表面 IL-22R1 表达水平有关,组织本身的特性也决定了其对 IL-22 的敏感性。

本实验结果显示 IL-22 可抑制由 SNP 诱导的 RA-FLS 细胞凋亡,其机制可能部分与上调 RA-FLS 中 Bcl-2 的表达有关。结合 IL-22 对 RA-FLS 促增殖、侵袭、迁移等作用,以及 IL-22 对免疫细胞无应答的特性,提示 IL-22 有可能成为治疗 RA 的新靶点。

参考文献

- [1] FIRESTEIN GS. Evolving concepts of rheumatoid arthritis[J]. *Nature*, 2003, 423(6937): 356-361.
- [2] NEUMANN E, LEFEVRE S, ZIMMERMANN B, et al. Rheumatoid arthritis progression mediated by activated synovial fibroblasts[J]. *Trends Mol Med*, 2010, 16(10): 458-468.
- [3] KORB A, PAVENSTADT H, PAP T. Cell death in rheumatoid arthritis[J]. *Apoptosis*, 2009, 14(4): 447-454.
- [4] XIE M H, AGGARWAL S, HO W H, et al. Interleukin (IL)-22, a novel human cytokine that signals through the interferon receptor-related proteins CRF2-4 and IL-22R[J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(40): 31335-31339.
- [5] LIM C, SAVAN R. The role of the IL-22/IL-22R1 axis in cancer[J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2014, 25(3): 257-271.
- [6] XU X, TANG Y, GUO S, et al. Increased intratumoral interleukin 22 levels and frequencies of interleukin 22-producing CD4+ T cells correlate with pancreatic cancer progression[J]. *Pancreas*, 2014, 43(3): 470-477.
- [7] YU LZ, WANG HY, YANG SP, et al. Expression of interleukin -22/STAT3 signaling pathway in ulcerative colitis and related carcinogenesis [J]. *World J Gastroenterol*, 2013, 19(17): 2638-2649.
- [8] JIANG R, TAN Z, DENG L, et al. Interleukin-22 promotes human hepatocellular carcinoma by activation of STAT3[J]. *Hepatology*, 2011, 54(3): 900-909.
- [9] ZHANG W, CHEN Y, WEI H, et al. Antiapoptotic activity of autocrine interleukin -22 and therapeutic effects of interleukin -22 -small interfering RNA on human lung cancer xenografts [J]. *Clin Cancer Res*, 2008, 14(20): 6432-6439.
- [10] FASSBENDER HG. Histomorphological basis of articular cartilage destruction in rheumatoid arthritis [J]. *Coll Relat Res*, 1983, 3(2): 141-155.
- [11] NEUMANN E, LEFEVRE S, ZIMMERMANN B, et al. Rheumatoid arthritis progression mediated by activated synovial fibroblasts[J]. *Trends Mol Med*, 2010, 16(10): 458-468.
- [12] NOSS EH, BRENNER MB. The role and therapeutic implications of fibroblast -like synoviocytes in inflammation and cartilage erosion in rheumatoid arthritis [J]. *Immunol Rev*, 2008, 223(1): 252-270.
- [13] JUAREZ M, FILER A, BUCKLEY CD. Fibroblasts as therapeutic targets in rheumatoid arthritis and cancer[J]. *Swiss Med Wkly*, 2012, 142(4): w13529.
- [14] LIM C, SAVAN R. The role of the IL-22/IL-22R1 axis in cancer[J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2014, 25(3): 257-271.
- [15] KIM KW, KIM HR, PARK JY, et al. Interleukin-22 promotes osteoclastogenesis in rheumatoid arthritis through induction of RANKL in human synovial fibroblasts[J]. *Arthritis Rheum*, 2012, 64(4): 1015-1023.
- [16] MITRA A, RAYCHAUDHURI SK, RAYCHAUDHURI S P. IL-22 induced cell proliferation is regulated by PI3K/Akt/mTOR signaling cascade [J]. *Cytokine*, 2012, 60(1): 38-42.
- [17] CARRION M, JUARRANZ Y, MARTINEZ C, et al. IL -22/IL -22R1 axis and S100A8/A9 alarmins in human osteoarthritic and rheumatoid arthritis synovial fibroblasts [J]. *Rheumatology (Oxford)*, 2013, 52(12): 2177-2186.
- [18] GUO X, PAN Y, XIAO C, et al. Fractalkine stimulates cell growth and increases its expression via NF-kappaB pathway in RA-FLS[J]. *Int J Rheum Dis*, 2012, 15(3): 322-329.
- [19] 郭欣,胡爱玲,方霖楷,等. RICTOR 对类风湿关节炎成纤维样滑膜细胞活力的影响[J]. *中国病理生理杂志*, 2013, 29(3): 526-530.
- GUO X, HU A, FANG L, et al. Effect of RICTOR expression on cell viability in rheumatoid arthritis fibroblast like synoviocytes [J]. *Chin J Pathophysiol*, 2013, 29(3): 526-530.
- [20] 刘岩,潘云峰,方霖楷,等. uPAR 在类风湿关节炎成纤维样滑膜细胞中的功能及机制[J]. *中山大学学报(医学科学版)*, 2014, 35(2): 200-206.
- LIU Y, PAN Y, FANG L, et al. Effects and Mechanisms of uPAR Expression in Rheumatoid Arthritis Fibroblast-like Synoviocytes[J]. *J Sun Yat-Sen Univ (Med Sci)*, 2014, 35(2):200-206.
- [21] VAN'T H R, HOCKING L, WRIGHT PK, et al. Nitric oxide is a mediator of apoptosis in the rheumatoid joint [J]. *Rheumatology (Oxford)*, 2000, 39(9): 1004-1008.