

成纤维样滑膜细胞原代培养及其在类风湿关节炎治疗机制研究中的应用进展^Δ

汪永忠^{1*}, 邓龙飞², 韩燕全¹, 姜 辉¹, 李钰馨³, 夏伦祝^{1#} (1. 安徽中医药大学第一附属医院/国家中医药管理局中药制剂三级实验室, 合肥 230031; 2. 上海奉贤区中医医院, 上海 201400; 3. 安徽中医药大学药学院, 合肥 230012)

中图分类号 R285.5 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)07-0966-04
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.07.31

摘 要 目的: 综述成纤维样滑膜细胞(FLS)及其在类风湿关节炎(RA)药效作用机制研究中的应用进展。方法: 以“成纤维样滑膜细胞”“类风湿关节炎”“中药单体”“滑膜细胞”“Arthritis”“Fibroblast-like synoviocytes”为关键词, 组合检索2006年1月—2015年10月在PubMed、中国知网、维普等数据库中对FLS原代培养及其在RA治疗机制研究中的应用文献进行总结和归纳。结果: 共查阅到相关文献68篇, 其中有效文献32篇。FLS原代培养成功率较高, 培养方法多样且日趋完善, 在RA的治疗机制研究中得到了广泛的应用; 同时, 中药及化学合成药、激酶抑制剂等可通过NF- κ B、Akt等信号通路抑制炎症因子或相关蛋白基因从而达到治疗RA的目的。结论: FLS体外试验在RA相关研究中得到广泛的应用, 治疗药物如中药及化学合成药、激酶抑制剂通过细胞分子水平研究在信号通路的介导下都对RA有治疗作用。

关键词 类风湿关节炎; 成纤维样滑膜细胞; 中药; 药理

类风湿关节炎(Rheumatoid arthritis, RA)是一种系统性自身免疫性疾病, 病理特征主要为滑膜组织异常增生、血管翳生成、侵犯关节, 最终可导致关节畸形甚至致残, 影响RA患者行动能力及身心健康^[1-2]。滑膜是由疏松结缔组织组成的膜性组织, 即为关节囊的内层。正常滑膜分为两层, 即薄的细胞层(内腔层)和血管层(内膜下层), 而RA因滑膜组织类肿瘤样增殖, 单层的滑膜明显增厚肥大, 炎性细胞不断迁移和浸润, 引起病变。1933年, Vaubel首次在实验室培养出滑膜细胞, 根据电镜特征可分为滑膜细胞A、B两型, 即巨噬样滑膜细胞和成纤维样滑膜细胞(Fibroblast-like synoviocytes, FLS)。近年来相关研究认为, FLS在RA滑膜病变中扮演了重要角色, 参与了滑膜增生、致炎细胞因子及免疫反应介质的分泌, 从而影响了滑膜组织与其周围结缔组织的正常形态和生理功能, 参与关节破坏的病理过程^[3]。因此, 体外滑膜细胞特别是FLS的原代培养是研究其正常形态及功能、探索RA可能的发病机制、深入研究信号传导、细胞增殖与凋亡、体外筛选药物并实现个体化用药、评价抗风湿药物等的重要手段。笔者以“成纤维样滑膜细胞”“类风湿关节炎”“中药单体”“滑膜细胞”“Arthritis”“Fibroblast-like synoviocytes”为关键词, 组合检索2006年1月—2015年10月在PubMed、中国知网、维普等数据库中FLS的原代培养及RA相关药物治疗机制的相关文献。结果, 共查阅到相关文献68篇, 其中有效文献32篇。现对FLS原代培养及其在RA中的应用研究进行综述。

1 FLS的原代培养

现有的FLS原代培养研究多以临床RA患者、大鼠、兔模型等为对象取材并进行培养, 所有模型FLS原代培养基本方

法主要有组织块贴壁培养法、酶消化法等, 临床患者的滑膜细胞因取材于人体, 亦可采用机械分离法、关节液培养法^[4]。

1.1 组织块贴壁培养法^[5]

在无菌条件下取出滑膜组织并处理, 用D-Hank's溶液冲洗倒去洗液, 倒入少量含10%胎牛血清的杜尔伯科改良伊格爾培养液(DMEM), 将滑膜组织剪碎, 分散放置于培养瓶底壁, 将培养瓶倒置翻转, 使组织块面位于上方, 倒入DMEM培养液, 轻放培养箱中于37℃、5%CO₂条件下培养。根据细胞生长情况及观察培养液的颜色变化, 适时每1~3天更换培养液, 长满后可开始传代。

1.2 酶消化法^[6]

取出滑膜组织, 用D-Hank's溶液冲洗3次, 倒入少量10%胎牛血清的DMEM培养液, 将滑膜组织剪碎成约1 mm³小块, 置于培养瓶中, 放于培养箱中消化2 h, 过滤除去组织块, 离心去上清, 继续培养30 min。过滤, 加DMEM液终止消化, 于培养箱中培养24~48 h, 换液, 继续培养, 待细胞长满培养瓶壁时, 进行传代。

1.3 改良组织块贴壁培养法

以上两种基本的原代培养方法均存在着一定的不足。因此, 多年来在实验研究中已将上述方法进行完善改进。Guo X等^[7]改良了组织块培养法, 先将滑膜组织剪碎, 加入I型胶原酶消化培养, 过滤后收集细胞转入培养瓶中培养, 将过滤网上的组织碎屑加入培养液及I型胶原酶培养过夜。与直接的组织块培养法比较, 改进后的方法培养滑膜细胞成功率高, 细胞游出时间早、所需传代时间短, 具有明显优势。Lee J等^[8]将滑膜组织剪碎, 加入5 mg/ml的IV型胶原酶, 并添加150 g/ml的I型DNA酶进行消化, 优化点在于胶原酶消化组织的过程中, 由于部分细胞会被破坏, 进而释放其核内的染色质(Genome), 而这些Genome有很强的黏性会把细胞们黏在一起, 在进一步分离时被挡在过滤网外, 进而影响细胞得率。因此需要用I型DNA酶去去掉这些有黏性的Genome, 提高细胞得率, 减少消

^Δ 基金项目: 安徽省自然科学基金资助项目(No.1508085MH201)

* 主任药师, 硕士生导师。研究方向: 中药药理与临床药学。电话: 0551-62838556。E-mail: wyzhmail@163.com

通信作者: 主任药师。研究方向: 中药药剂与开发。电话: 0551-62838556。E-mail: xialunzhu@sohu.com

化及分离时间,保护细胞活力。同时将未消化的组织进行重力沉降再次分离,有效地提高了原代滑膜细胞获得量,利于后续原代培养。研究表明,改良后组织贴壁培养的滑膜细胞数目最多、细胞活力最强,为体外滑膜细胞培养的最优方法^[9]。

2 FLS原代培养在RA中的应用研究

FLS原代培养成功率较高,方法趋于成熟,操作简便,所得滑膜细胞活力强,为体外研究RA在滑膜中的可能作用机制、相关信号通路的调控、药物评价及作用机制等提供了坚实的基础。在RA病变过程中,FLS在形态学和生物学活性上都发生了转变,出现一种独特的细胞型别改变,影响信号级联和凋亡反应分子的变化等,使其在不需要外界不断刺激条件下就可以维持激活状态,即使脱离炎症环境仍可继续活化、异常增殖,在RA炎症扩散、迁移、侵袭及血管翳生成等过程中起了重要的作用^[10-12]。

因此,FLS已成为体外研究RA滑膜病理机制探讨的重要工具,为深入研究药物疗效及药物评价、相关作用通路机制、细胞因子的水平改变、细胞增殖与凋亡等提供了重要研究基础。目前FLS体外细胞实验主要集中在中药药理研究领域,化学合成药物的毒理及可能的治疗机制研究、激酶抑制剂类调控相关信号通路等研究近年来也不断开展。

2.1 中药

2.1.1 中药单体 大量RA治疗研究结果表明,多种中药具有抗RA作用,如雷公藤、苦参、青风藤等。雷公藤红素(Celastrol)是从中药雷公藤中提取的主要活性成分之一,雷公藤是一种传统中药,可在各种慢性炎症疾病中缓解疼痛和抑制炎症。体外细胞实验研究发现,Celastrol作用于RA-FLS,可剂量依赖性降低RA-FLS活力和增加乳酸脱氢酶(LDH)的释放,通过流式细胞仪分析及锚定蛋白-异硫氰酸荧光素(Annexin V-Fitc)细胞凋亡检测发现,Celastrol可诱导RA-FLS细胞周期G₂/M期阻滞及细胞凋亡。此外,Celastrol可显著增加B淋巴细胞瘤-2基因相关X蛋白/B淋巴细胞瘤2(Bax/Bcl-2)基因的表达,半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶(Caspase)-3、Caspase-9和聚腺苷二磷酸-核糖聚合酶的蛋白水解切割,以及降低FasR基因的表达。研究发现,Celastrol可通过诱导DNA损伤,阻滞细胞周期及体外凋亡,抑制RA-FLS细胞增殖,为治疗RA提供理论基础^[13]。有报道指出,苦参中的有效成分苦参碱及氧化苦参碱均可有效抑制免疫球蛋白E(IgE)及其特异性抗原引起的小鼠及大鼠腹腔肥大细胞中组胺及白三烯等介质的释放,表明苦参碱具有抗炎作用^[14]。苦参碱是从豆科植物苦参的干燥根中提取的一种四环喹啉类生物碱,有研究采用RA患者人关节滑膜细胞进行体外实验,发现苦参碱可下调RASFs中基质金属蛋白酶3(MMP-3)的表达水平,MMP-3是目前认为导致软骨降解最重要的蛋白酶,是反映关节滑膜炎症的指标之一。实验表明,苦参碱可通过NF- κ B信号通路抑制MMP-3、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)及白细胞介素1 β (IL-1 β)的表达,进而抑制RA-FLS增殖、侵袭,提示苦参碱可通过抑制RA-FLS的增殖和侵袭从而缓解RA的发生^[15]。此外,青藤碱(SIN)是从传统中药青风藤中提取的一种生物碱单体,具有免疫抑制、抗炎镇痛等多种药理作用。以SIN对体外培养的RA-FLS细胞进行干预,检测细胞内髓样分化因子(MyD88)和泛素连接酶(TRAF-6)基因、蛋白表达,结果表明使用0.5 mmol/L SIN干预的RA-FLS细胞与对照组比较,MyD88和TRAF-6基因、蛋白的表达受到明显抑制,从而延缓RA-FLS细胞增生导致患者软骨和软骨下骨破坏造成关节畸形和强直的发生^[16]。有实验表

明,SIN对RA的治疗还可能与一定程度阻止了树突状细胞介导的抗原提呈和协同刺激信号,从而阻断了T细胞的异常活化有关^[17]。

2.1.2 单味药及有效部位 从临床RA患者术中获得标本,通过酶消化法培养RA-FLS细胞,并用免疫磁珠法筛选滑膜巨噬细胞(CD⁶⁸⁺和CD68⁻,验证不同浓度昆明山海棠水提液对RA-FLS细胞体外增殖及其对细胞凋亡的影响。结果显示,昆明山海棠有细胞毒性,对RA滑膜CD68⁺、CD68⁻细胞的抑制效应和诱导细胞效应强于同种正常滑膜细胞,且呈明显时间依赖性和剂量依赖性;同时,昆明山海棠可抑制RA-FLS细胞异常增殖,诱导凋亡,在药液体积分数为1%时,对正常滑膜细胞毒性较小但对RA滑膜细胞有较强的效应^[18]。除单味药外,有效部位治疗RA研究也较为广泛。有学者培养了RA患者的FLS细胞,观察10、20、30 mg/L穿山龙总皂苷对RA-FLS细胞中NF- κ B p65、抑制因子I κ B- α 蛋白水平及信使RNA(mRNA)表达的影响,发现穿山龙总皂苷通过下调NF- κ B的活化、提升I κ B的表达,从而抑制RA-FLS细胞的NF- κ B过度激活而发挥治疗RA作用,有望成为新的治疗RA药物^[19]。

2.1.3 中药复方 中药复方的体外细胞实验多以含药血清为载体来进行,从而观察对RA-FLS细胞的影响。高华利等^[20]制作了补肾强骨方含药血清来探讨其对RA-FLS细胞增殖及增殖细胞核抗原(PCNA)、Bcl-2 mRNA表达,结果表明补肾强骨方含药血清可抑制RA-FLS增殖作用,同时可显著抑制FLS细胞中PCNA、Bcl-2 mRNA表达,推测可能是通过下调PCNA、Bcl-2 mRNA表达来抑制FLS细胞增殖达到改善类风湿关节炎目的。林昌松等^[21]通过断藤益母汤含药血清对取自RA-FLS细胞体外培养影响的研究,探讨了其可能的作用机制,认为该含药血清在给药后48、72 h后可显著抑制滑膜细胞增殖,并且推测通过下调脂多糖(LPS)诱导的Toll样受体4(TLR4) mRNA表达是其可能的作用机制之一。含药血清的药理学研究目前存在争议,如血清供体的选择、禁食时间、给药的剂量等没有规范化标准,无法进行统一量化对比,因而不作详细综述。

2.2 化学合成药物

有学者将取自RA患者的FLS进行培养,并观察了辛伐他汀对FLS迁移和侵袭能力的影响,并探讨可能的作用机制。结果表明,辛伐他汀可通过抑制Ras同源基因家族成员A(RhoA)活化来抑制RA滑膜的迁移和侵袭,并且这种抑制效果是与抑制细胞凋亡互相独立的,提示RhoA蛋白可作为一个治疗RA的新靶点^[22]。另有学者以免为实验对象,观察了左氧氟沙星对FLS可能的毒性作用,结果认为左氧氟沙星可显著降低细胞存活率及乙酰透明质酸合酶-2(HAS-2)的基因表达,提升MMP-3、MMP-13的表达水平,这可能是其细胞毒性的潜在机制之一^[23]。

2.3 激酶抑制剂类

国外有学者研究发现,布鲁顿酪氨酸激酶(BTK)可介导血小板受体诱导产生血小板微粒(pMPs),可交互并激活FLS使得炎症放大,而BTK抑制剂可通过抑制糖蛋白VI介导的血小板活化以及抑制伴随的pMPs诱导滑膜细胞炎症放大效果^[24]。该数据支持了BTK抑制剂对RA的潜在治疗作用。另有研究认为,脱氧胞苷激酶(DCK)位于Akt和焦点黏附激酶(FAK)上游,DCK可通过Akt信号转导通路调节RA患者的滑膜细胞的迁移和侵袭,这些发现提示可将DCK作为一种新型的目标来控制RA^[25]。在有关P21活化蛋白激酶1(PAK1)的研究中,实

验发现PAK1可调节体外RA-FLS细胞的迁移和侵袭作用^[26]。

2.4 其他

除了常规药物在RA-FLS细胞中的大量研究来评价其治疗作用及可能的作用机制外,RA-FLS细胞研究的方向和思路越来越具有开拓性。如有学者通过滑膜靶向肽靶向传递细胞因子角度出发来治疗RA^[27];亦有研究从基因位点角度出发研究,发现Cia5d基因可作为FLS细胞浸润性的调节器,探讨了可能的作用机制^[28];考察胎盘生长因子(PIGF)及其人血管内皮生长因子受体(FLT-1)与RA炎症的作用,发现增强PIGF及FLT-1的表达可促使产生炎性细胞因子加重RA炎症,使用一种新的抗FLT-1的六肽GNQWFI,可作为治疗RA的一个有效战略^[29]。在RA-FLS体外试验中,大麻素受体2(CB2R)表达量高于正常FLS细胞,提示CB2R可能是RA的潜在治疗靶点^[30]。此类研究多途径、多靶点、多方向地探讨了RA的可能作用机制,推动了抗RA研究的不断深入。

3 结语

RA是一种常见的、自发性的、全身免疫性疾病,以慢性关节炎为其主要的病理特征,表现为滑膜细胞明显异常增殖,炎性细胞浸润、侵蚀软骨及周围滑膜组织、血管翳生成等^[31]。FLS是造成RA患者关节损伤的主要效应细胞,因此,从滑膜细胞入手探讨并阐明相关作用机制是抗类风湿关节炎的策略之一^[32]。经过多年实验过程中的完善改进,RA-FLS细胞体外培养成功率较高,为开发治疗RA药物及阐明可能的机制提供了坚实的实验基础。

如上所述,目前RA与RA-FLS细胞体外试验多集中在药物的药效及对可能的信号通路转导机制的研究,从不同的角度深入研究RA的可能发病原理与机制的实验也越来越多,为研发新型治疗RA药物提供了很好的方向和实验基础。中药、化学合成药和激酶抑制剂类有可以下调RA中相关炎性细胞因子的表达,缓解炎症;抑制FLS增殖,促进其凋亡,进而减少滑膜组织增生;抑制人软骨细胞的降解和软骨的退化,阻止关节骨的破坏。其中,中药有效成分治疗RA具有多靶点、多途径的特点,药理活性广泛,具有重要的开发研究价值;化学合成药及激酶抑制剂类等药物已经通过临床研究证实了其在治疗RA中的持续疗效和较好的安全性,但是其长期安全性仍有待观察。在开发治疗RA的新型药物中,可考虑多种药物联合开发,从细胞分子水平、基因角度以及治疗靶点入手,找出抗RA的高效治疗药物。

参考文献

- [1] Stump KL, Lu LD, Dobrzanski P, *et al.* A highly selective, orally active inhibitor of janus kinase, CEP-33779, ablates disease in two mouse models of rheumatoid arthritis[J]. *Arthritis Res Ther*, 2011, 13(2):68.
- [2] Cho SK, Lee JH, Han M, *et al.* The influence of vertebral fracture on the functional disability of patients with rheumatoid arthritis[J]. *J Korean Med Sci*, 2014, 29(6):859.
- [3] Igarashi H, Yahagi A, Saika T, *et al.* A pro-inflammatory role for A20 and ABIN family proteins in human fibroblast-like synoviocytes in rheumatoid arthritis[J]. *Immunol Lett*, 2012, 141(2):246.
- [4] Hwang SJ, Choi B, Kang SS, *et al.* Interleukin-34 produced by human fibroblast-like synovial cells in rheumatoid arthritis supports osteoclastogenesis[J]. *Arthritis Res Ther*, 2012, 14(1):14.
- [5] Wang M, Zhu S, Peng W, *et al.* Sonic hedgehog signaling drives proliferation of synoviocytes in rheumatoid arthritis: a possible novel therapeutic target[J]. *J Immunol Res*, 2014, doi:10.1155/2014/401903.
- [6] 李婷,戴冽,杨斌,等.改良组织块法培养细针活检滑膜组织成纤维样滑膜细胞[J]. *中山大学学报:医学科学版*, 2010, 31(4):567.
- [7] Guo X, Pan Y, Xiao C, *et al.* Fractalkine stimulates cell growth and increases its expression via NF- κ B pathway in RA-FLS[J]. *Int J Rheum Dis*, 2012, 15(3):322.
- [8] Lee J, Jeong H, Park EJ, *et al.* A role for benzo[a]pyrene and slug in invasive properties of fibroblast-like synoviocytes in rheumatoid arthritis: a potential molecular link between smoking and radiographic progression[J]. *Joint Bone Spine*, 2013, 80(6):621.
- [9] 孙贵才,徐轶尔,谢晶日,等.四种不同处理方法体外培养大鼠滑膜细胞[J]. *中国组织工程研究*, 2012, 16(7):1193.
- [10] Xiao Y, Liang L, Huang M, *et al.* Bromodomain and extra-terminal domain bromodomain inhibition prevents synovial inflammation via blocking I κ B kinase-dependent NF- κ B activation in rheumatoid fibroblast-like synoviocytes[J]. *Rheumatology: Oxford*, 2016, 55(1):173.
- [11] Yi JK, Kim HJ, Yu DH, *et al.* Regulation of inflammatory responses and fibroblast-like synoviocyte apoptosis by calcineurin-binding protein 1 in mice with collagen-induced arthritis[J]. *Arthritis Rheum*, 2012, 64(7):2191.
- [12] Lee JW, Ok MR, Lee S, *et al.* Detecting changes in arthritic fibroblast-like synoviocytes using atomic force microscopy[J]. *Microsc Res Tech*, 2015, doi:10.1002/jemt.22562.
- [13] Xu Z, Wu G, Wei X, *et al.* Celastrol induced DNA damage, cell cycle arrest, and apoptosis in human rheumatoid fibroblast-like synovial cells[J]. *Am J Chin Med*, 2013, 41(3):615.
- [14] 姚红艳,李诗举,李秀富,等.苦参碱对断奶仔猪腹泻及胃肥大细胞的影响[J]. *动物保健*, 2011, 47(5):52.
- [15] 赖永旭.苦参碱对类风湿关节炎滑膜成纤维细胞生物学活性的影响[J]. *四川医学*, 2015, 36(1):21.
- [16] 张洪长,刘明昕,张莹,等.青藤碱对类风湿关节炎成纤维样滑膜细胞MyD88、TRAF-6表达的影响[J]. *中国免疫学杂志*, 2015, 31(4):485.
- [17] 余克强,赵毅,李娟.青藤碱对类风湿关节炎树突状细胞CD80mRNA、CD86mRNA表达的影响[J]. *中国药房*, 2006, 17(5):331.
- [18] 曾润铭,杜世新,吴杰,等.昆明山海棠与类风湿关节炎滑膜细胞体外增殖与凋亡[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2009, 13(50):9892.
- [19] 段一娜,王明娟,杨佳琪,等.穿山龙水溶性总皂苷对类风湿患者成纤维样滑膜细胞核因子 κ B p65的抑制作用[J]. *广州中医药大学学报*, 2014, 31(2):243.
- [20] 高华利,欧阳桂林,黄新星,等.补肾强骨方含药血清对滑膜成纤维细胞增殖及PCNA和Bcl-2表达的影响[J]. *中国骨伤*, 2012, 25(11):942.

4T1 小鼠乳腺癌细胞在化疗药、中药单体及生物治疗研究中的应用^Δ

田名博^{1,2*}, 曾佳², 朱芷涵², 刘丹萍², 薛嫚², 俸灵林^{2#}, 李津明^{1,3#} (1. 哈尔滨商业大学药学院, 哈尔滨 150076; 2. 上海市计划生育科学研究所/国家人口和计划生育委员会计划生育药具重点实验室/上海生殖健康药具工程技术研究中心, 上海 200032; 3. 厦门医学高等专科学校, 福建 厦门 361008)

中图分类号 R73-36 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)07-0969-04
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.07.32

摘要 目的: 为研究者更加深入优化 4T1 小鼠乳腺癌细胞模型并服务于肿瘤新药及基础机制研究提供参考。方法: 以“4T1 细胞模型”“乳腺癌”“4T1 cell line”“Mammary cancer”为关键词, 组合检索 2003 年 1 月—2015 年 6 月在 PubMed、Springer Link、中国知网等数据库中的相关文献, 就该细胞模型在化疗药、中药单体和生物治疗方面的应用研究作一综述。结果: 共查阅到相关文献 99 篇, 其中有效文献 28 篇。4T1 细胞恶性程度高、转移性高且免疫原性低, 生长与转移特性与人类晚期乳腺癌十分相近。以 4T1 作为细胞模型已广泛应用于化疗药、中药单体和生物治疗等的研究中。结论: 4T1 细胞是人类 IV 期乳腺癌的理想细胞模型, 可用于对乳腺癌的发生机制、治疗药物的作用机制及毒性等相关内容进行研究。
关键词 4T1 细胞; 乳腺癌; 转移; 化疗药; 中药单体; 生物治疗

乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤之一, 在中国, 其发病率居女性恶性肿瘤第一位^[1]。乳腺癌发生和发展过程与众多肿瘤相关因子表达异常和功能改变相关^[2]。大多肿瘤治疗研究需首先采用体外细胞试验或在动物模型体内完成。因此, 选

择一个理想的乳腺癌细胞株开展相关体内外研究具有十分重要的意义^[3]。

4T1 小鼠乳腺癌细胞模型衍生于未经转染的 410.4 乳腺癌细胞的 4 大亚系之一, 从小鼠 C3H 亲代细胞培育的小鼠乳腺肿

[21] 林昌松, 梁江, 刘清平, 等. 断藤益母汤含药血清对人类风湿关节炎滑膜成纤维细胞增殖及 TLR4 表达的影响[J]. 中药新药与临床药理, 2012, 23(2): 147.

[22] Xiao Y, Liang L, Pan Y, et al. Inhibitory effects of simvastatin on migration and invasion of rheumatoid fibroblast-like synoviocytes by preventing geranylgeranylation of RhoA[J]. *Rheumatol Int*, 2013, 33(2): 389.

[23] Tan Y, Lu K, Deng Y, et al. The effects of levofloxacin on rabbit fibroblast-like synoviocytes in vitro[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2012, 265(2): 175.

[24] Hsu J, Gu Y, Tan SL, et al. Bruton's tyrosine kinase mediates platelet receptor-induced generation of microparticles: a potential mechanism for amplification of inflammatory responses in rheumatoid arthritis synovial joints[J]. *Immunol Lett*, 2013, 150(1/2): 97.

[25] Fan W, Zhou ZY, Huang XF, et al. Deoxycytidine kinase promotes the migration and invasion of fibroblast-like synoviocytes from rheumatoid arthritis patients[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2013, 6(12): 2 733.

[26] Fu D, Yang Y, Xiao Y, et al. Role of p21-activated kinase 1 in regulating the migration and invasion of fibroblast-like synoviocytes from rheumatoid arthritis patients[J]. *Rheumatology: Oxford*, 2012, 51(7): 1 170.

[27] Wythe SE, DiCara D, Taher TE, et al. Targeted delivery of cytokine therapy to rheumatoid tissue by a synovial targeting peptide[J]. *Ann Rheum Dis*, 2013, 72(1): 1 291.

[28] Laragione T, Brenner M, Mello A, et al. The arthritis severity locus *cia 5d* is a novel genetic regulator of the invasive properties of synovial fibroblasts[J]. *Arthritis Rheum*, 2008, 58(8): 2 296.

[29] Yoo SA, Yoon HJ, Kim HS, et al. Role of placenta growth factor and its receptor flt-1 in rheumatoid inflammation[J]. *Arthritis Rheum*, 2009, 60(2): 345.

[30] Gui H, Liu X, Wang ZW, et al. Expression of cannabinoid receptor 2 and its inhibitory effects on synovial fibroblasts in rheumatoid arthritis[J]. *Rheumatology: Oxford*, 2014, 53(5): 802.

[31] Sonomoto K, Yamaoka K, Tanaka Y. An approach to bone and cartilage repair of rheumatoid arthritis by mesenchymal stem cells[J]. *J Uoeh*, 2014, 36(2): 141.

[32] Du F, Lü LJ, Teng JL, et al. T-614 alters the production of matrix metalloproteinases (MMP-1 and MMP-3) and inhibits the migratory expansion of rheumatoid synovial fibroblasts, in vitro[J]. *Int Immunopharmacol*, 2012, 13(1): 54.

Δ 基金项目: 上海市科学技术委员会科研计划项目 (No. 14JC149-2300); 上海市卫生和计划生育委员会科研课题 (No. 20144Y0049)
* 硕士研究生。研究方向: 新型药物传输系统。电话: 021-64438536。E-mail: 250310565@qq.com
#a 通信作者: 副研究员, 博士。研究方向: 新型给药系统和生殖相关疾病治疗学。电话: 021-64438536。E-mail: Fenglinglinxin@163.com
#b 通信作者: 教授, 博士。研究方向: 新型药物传输系统。电话: 0592-2110643。E-mail: lijnming1962@163.com

(收稿日期: 2015-09-21 修回日期: 2015-11-09)
(编辑: 余庆华)