

ChAT/ α 7nAChR/核因子 κ B信号途径在类风湿关节炎发病中的免疫调控

李玉彤, 刘静淑, 李振

https://doi.org/10.12307/2023.889

投稿日期: 2022-11-01

采用日期: 2022-12-12

修回日期: 2023-02-26

在线日期: 2023-03-13

中图分类号:

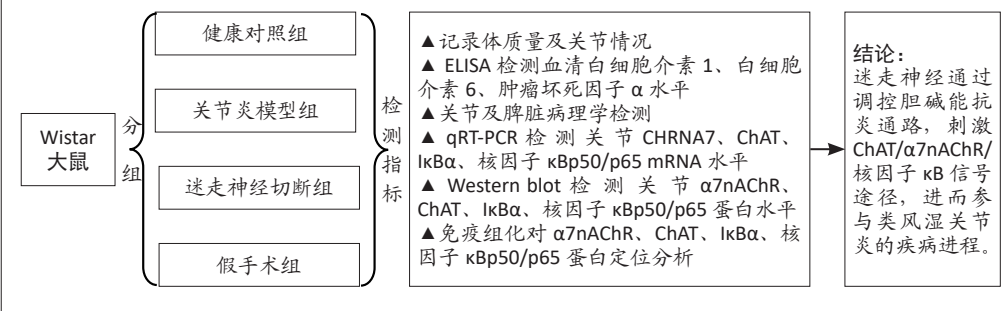
R459.9; R318; R392.9

文章编号:

2095-4344(2023)35-05596-07

文献标识码: B

文章快速阅读: 类风湿关节炎发病中 ChAT/ α 7nAChR/核因子 κ B 信号途径的免疫调控



文题释义:

类风湿关节炎: 是一种慢性炎症性自身免疫疾病, 表现为骨和软骨的进行性破坏和血管翳的形成, 严重者伴脏器损害和机体功能丧失。类风湿关节炎的发病机制尚不完全明晰, 涉及免疫细胞的过度活化和成纤维样滑膜细胞的异常增生, 与环境、遗传等因素密切相关。

ChAT/ α 7nAChR/核因子 κ B信号途径: ChAT/ α 7nAChR/核因子 κ B信号途径立足于胆碱能抗炎通路, 胆碱乙酰转移酶(ChAT)催化胆碱和乙酰辅酶A在迷走神经远端产生乙酰胆碱, 乙酰胆碱活化并结合烟碱型乙酰胆碱 γ 受体(α 7nAChR), 抑制核因子 κ B信号通路的激活, 减少炎症因子的产生, 从而减轻机体炎症反应。

摘要

背景: 胆碱能抗炎通路广泛参与类风湿关节炎发生发展, 然而胆碱乙酰转移酶(choline acetyltransferase, ChAT)/烟碱型乙酰胆碱 γ 受体(α 7 nicotinic acetylcholine receptor, α 7nAChR)/核因子 κ B信号途径在类风湿关节炎发病中的免疫调控机制研究未见报道。

目的: 探究类风湿关节炎发病中ChAT/ α 7nAChR/核因子 κ B信号途径的免疫调控机制。

方法: 取32只雌性Wistar大鼠, 采用随机数字表法分为4组, 每组8只: 除健康对照组外, 关节炎模型组、迷走神经切断组和假手术组均采用牛II型胶原和弗氏完全/不完全佐剂构建关节炎大鼠模型, 造模成功后, 迷走神经切断组切断颈部左侧迷走神经, 假手术组仅分离迷走神经。术后5周, 检测各组大鼠体质量、关节炎评分和关节肿胀度、脾脏及关节病理变化, ELISA检测血清白细胞介素1、白细胞介素6、肿瘤坏死因子 α 水平, qRT-PCR及Western blot、免疫组化检测ChAT/ α 7nAChR/核因子 κ B通路核心基因mRNA及蛋白表达。

结果与结论: ①与健康对照组相比, 关节炎模型组大鼠体质量下降($P < 0.05$), 关节炎评分升高($P < 0.01$), 踝关节肿胀度加重, 关节间隙减小伴炎细胞浸润, 脾脏白髓及生发中心增大增多, 血清白细胞介素1、白细胞介素6、肿瘤坏死因子 α 水平升高($P < 0.05$, $P < 0.01$), 关节中 α 7nAChR、ChAT、IkB α 、核因子 κ B p50/p65的mRNA及蛋白表达升高($P < 0.05$, $P < 0.01$), 在关节面中显著表达; ②与关节炎模型组和假手术组相比, 迷走神经切断组大鼠体质量下降($P < 0.05$), 关节炎评分升高($P < 0.05$, $P < 0.01$), 踝关节肿胀度加重伴畸形, 关节间隙消失伴炎细胞浸润, 脾脏白髓及生发中心增大融合, 血清白细胞介素1、白细胞介素6、肿瘤坏死因子 α 水平升高($P < 0.05$, $P < 0.01$), 关节中 α 7nAChR、ChAT、IkB α 、核因子 κ B p50/p65 mRNA及蛋白表达升高($P < 0.05$, $P < 0.01$), 在关节面中显著表达; ③结果提示, 迷走神经通过调控胆碱能抗炎通路刺激ChAT/ α 7nAChR/核因子 κ B信号途径, 进而参与类风湿关节炎的疾病进程, 提示胆碱能抗炎通路可能是治疗类风湿关节炎的潜在靶标。

关键词: ChAT/ α 7nAChR/核因子 κ B; 信号途径; 类风湿关节炎; 胆碱能抗炎通路; 迷走神经; 免疫调控

缩略语: 胆碱乙酰转移酶: choline acetyltransferase, ChAT; 烟碱型乙酰胆碱 γ 受体: α 7 nicotinic acetylcholine receptor, α 7nAChR

Immunoregulatory mechanism of choline acetyltransferase/ α 7 nicotinic acetylcholine receptor/nuclear factor- κ B signaling pathway in the pathogenesis of rheumatoid arthritis

Li Yutong, Liu Jingshu, Li Zhen

College of Basic Medical Sciences, Shanxi University of Chinese Medicine, Jinzhong 030619, Shanxi Province, China

Li Yutong, Master candidate, College of Basic Medical Sciences, Shanxi University of Chinese Medicine, Jinzhong 030619, Shanxi Province, China

Corresponding author: Li Zhen, Associate professor, Master's supervisor, College of Basic Medical Sciences, Shanxi University of Chinese Medicine, Jinzhong 030619, Shanxi Province, China

山西中医药大学基础医学院, 山西省晋中市 030619

第一作者: 李玉彤, 女, 1997年生, 河北省邢台市人, 汉族, 在读硕士, 主要从事风湿免疫性疾病中西医结合研究。

通讯作者: 李振, 副教授, 硕士生导师, 山西中医药大学基础医学院, 山西省晋中市 030619

https://orcid.org/0000-0003-4465-1086 (李玉彤)

基金资助: 国家自然科学基金项目(81904034), 项目负责人: 李振; 山西中医药大学博士启动基金项目(2020BK02), 项目负责人: 李振; 山西中

医药大学优秀青年科学家培育项目(2021PY-QN-04), 项目负责人: 李振; 基于炎症反应的重大疾病创新药物山西省重点实验室开

放基金资助项目(2021sxcxyw01), 项目负责人: 李振; 山西省中医药管理局科研课题计划(2023ZYCY058), 项目负责人: 李振;

山西中医药大学研究生创新创业项目(2021CX015), 项目负责人: 李玉彤

引用本文: 李玉彤, 刘静淑, 李振. ChAT/ α 7nAChR/核因子 κ B信号途径在类风湿关节炎发病中的免疫调控 [J]. 中国组织工程研究, 2023, 27(35):5596-5602.

2023, 27(35):5596-5602.



Abstract

BACKGROUND: The cholinergic anti-inflammatory pathway is widely involved in the development of rheumatoid arthritis. However, the immunoregulatory mechanism of choline acetyltransferase (ChAT)/ $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor ($\alpha 7$ nAChR)/nuclear factor (NF)- κ B signaling pathway in the pathogenesis of rheumatoid arthritis has not been reported.

OBJECTIVE: To investigate the immunoregulatory mechanism of ChAT/ $\alpha 7$ nAChR/NF- κ B signaling pathway in the pathogenesis of rheumatoid arthritis.

METHODS: Thirty-two female Wistar rats were randomly divided into healthy control group, arthritis model group, vagotomy group and sham operation group, with eight rats in each group. Except for the healthy control group, other groups were treated with bovine type-II collagen and Freund's complete/incomplete adjuvant to construct the rat arthritis model. After successful molding, the vagus nerve was severed from the left vagus nerve in the neck in the vagotomy group, while only the vagus nerve was isolated in the sham operation group. At 5 weeks after surgery, the body mass, arthritis score, joint swelling degree, pathological changes of the spleen and joint were detected. The levels of interleukin-1, interleukin-6 and tumor necrosis factor- α in serum were detected by ELISA. The mRNA and protein expression levels of ChAT/ $\alpha 7$ nAChR/NF- κ B pathway core genes were detected by qRT-PCR and western blot, respectively, and analyzed by immunohistochemistry.

RESULTS AND CONCLUSION: Compared with the healthy control group, the body mass of rats in the arthritis model group was significantly decreased ($P < 0.05$), the arthritis score was significantly increased ($P < 0.01$), the ankle swelling degree was aggravated, the joint space was reduced with inflammatory cell infiltration, and the white pulp and germinal center of the spleen were enlarged and increased. Moreover, the levels of interleukin-1, interleukin-6 and tumor necrosis factor- α were significantly increased, and the mRNA and protein expressions of $\alpha 7$ nAChR, ChAT, I κ B α , and NF- κ Bp50/p65 on the joint surface were also significantly increased in the arthritis model group compared with the healthy control group ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Compared with the arthritis model group and the sham operation group, the body mass of rats in the vagotomy group was significantly decreased ($P < 0.05$), the arthritis score was significantly increased ($P < 0.05$, $P < 0.01$), the swelling degree of the ankle joint was aggravated with deformity, the joint space disappeared with inflammatory cell infiltration, the white pulp and germinal center of the spleen were enlarged and merged. Compared with the arthritis model group and the sham operation group, the levels of interleukin-1, interleukin-6 and tumor necrosis factor- α were significantly increased in the vagotomy group ($P < 0.05$, $P < 0.01$), as well as the mRNA and protein expressions of $\alpha 7$ nAChR, ChAT, I κ B α , and NF- κ Bp50/p65 were significantly increased on the joint surface ($P < 0.05$, $P < 0.01$). To conclude, the vagus nerve regulates the cholinergic anti-inflammatory pathway and stimulates the ChAT/ $\alpha 7$ nAChR/NF- κ B signaling pathway to participate in the disease progression of rheumatoid arthritis. It indicates that the cholinergic anti-inflammatory pathway may be a potential target for the treatment of rheumatoid arthritis.

Key words: ChAT/ $\alpha 7$ nAChR/NF- κ B; signaling pathway; rheumatoid arthritis; cholinergic anti-inflammatory pathway; the vagus nerve; immunoregulation

Funding: National Natural Science Foundation of China, No. 81904034 (to LZ); Shanxi University of Chinese Medicine Doctoral Start-up Fund Project, No. 2020BK02 (to LZ); Shanxi University of Chinese Medicine Outstanding Young Scientist Cultivation Project, No. 2021PY-QN-04 (to LZ); Shanxi Province Key Laboratory Open Fund for Inflammatory Response-based Innovative Drugs for Major Diseases, No. 2021sxcxyw01 (to LZ); Scientific Research Plan of Shanxi Provincial Administration of Traditional Chinese Medicine, No. 2023ZYCY058 (to LZ); Postgraduate Innovation and Entrepreneurship Project of Shanxi University of Chinese Medicine, No. 2021CX015 (to LYT)

How to cite this article: LI YT, LIU JS, LI Z. Immunoregulatory mechanism of choline acetyltransferase/ $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor/nuclear factor- κ B signaling pathway in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2023;27(35):5596-5602.

0 引言 Introduction

类风湿关节炎是一种慢性炎症性自身免疫性疾病，好发于 50–60 岁女性，全球患病率为 0.1%–1.9%，主要特征为对称性多关节炎，可引起血管炎、皮下结节、动脉粥样硬化等多种关节外病变，治疗不及时可造成功能的严重丧失^[1-2]。类风湿关节炎确切的发病机制尚不明晰，涉及 T/B 细胞、巨噬细胞和树突状细胞等免疫细胞的过度活化及成纤维滑膜细胞的异常增生，与环境、遗传等因素密切相关^[1]。

胆碱能抗炎通路是由迷走神经、乙酰胆碱及其受体等组成的经典神经免疫调节通路，该通路可激活调节免疫细胞，通过抑制细胞增殖分化和细胞因子释放发挥抗炎作用，广泛参与类风湿关节炎等疾病的发生发展^[3]。迷走神经是最长的颅神经，由 80% 传入纤维和 20% 传出纤维组成，在颈动脉鞘中沿颈动脉和颈静脉并行，向喉部、食管、肺、腹部器官发出分支，涉及自主神经、呼吸、免疫、胃肠等多个系统^[4-5]。炎症状态下，外周细胞因子激活迷走神经传入纤维，致使乙酰胆碱在迷走神经远端释放；烟碱型乙酰胆碱 7 受体 ($\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor, $\alpha 7$ nAChR) 被乙酰胆碱激活，二者特异性结合，参与调节机体炎症反应^[6-7]。胆碱乙酰转移酶 (choline acetyltransferase, ChAT) 位于胆碱能神经元的细胞核中，催化胆碱和乙酰辅酶 A 产生乙酰胆碱^[8]。抑制核因子 κ B 是促炎递质基因转录的关键环节，活化后在目标基因启动子上形成具有生物功能的复合体，调控炎症反应相关基因的转录，促进大量炎症因子的表达^[9-10]。 $\alpha 7$ nAChR 的编码基因为 *CHRNA7*，在中枢神经系统表达，是先天性免疫系统的关键组成部分，大量存在于免疫细胞及线粒体表面^[11]。 $\alpha 7$ nAChR 与乙酰胆碱结合后激活下游信号通路，抑制核因子 κ B

信号通路激活，下调炎症递质合成，发挥抗炎作用^[12]。

目前虽有研究证明，切断迷走神经可加剧动物模型关节炎炎症程度，但类风湿关节炎发病进程中 ChAT/ $\alpha 7$ nAChR/核因子 κ B 信号途径的免疫调控机制研究未见报道。因此，实验通过切断胶原诱导关节炎大鼠单侧迷走神经调控胆碱能抗炎通路，探究 ChAT/ $\alpha 7$ nAChR/核因子 κ B 信号途径在类风湿关节炎发生发展中作用机制，为临床靶向治疗类风湿关节炎提供一定的实验基础。

1 材料和方法 Materials and methods

1.1 设计 随机对照动物实验，组间比较进行单因素方差分析。

1.2 时间及地点 实验于 2021 年 7 月至 2022 年 10 月在山西中医药大学中西医结合基础学科实验室完成。

1.3 材料

1.3.1 实验动物 32 只雌性 Wistar 大鼠，6–8 周龄，SPF 级，体质量 (170 \pm 10) g，购于北京西山昌扬养殖场，许可证号：SCXK(京)2019-0010。大鼠饲养于山西中医药大学实验动物中心，温度 (23 \pm 2) $^{\circ}$ C，湿度 (50 \pm 15)%，自由进食、饮水，适应性饲养 1 周后开始实验。实验已通过山西中医药大学伦理委员会批准 (2019LL156)，实验动物均在麻醉下进行所有手术，并尽一切努力最大限度地减少其疼痛、痛苦和死亡。

1.3.2 主要试剂 牛 II 型胶原 (Chondrex, 批号 20022); 弗氏完全 / 不完全佐剂 (Sigma, 批号 SLBR3877V、SLBM9362V); 大鼠白细胞介素 1、白细胞介素 6、肿瘤坏死因子 α ELISA 试剂盒 (上海酶联生物科技有限公司, 批号 ml037373、ml102828、ml002859); 苏木精-伊红染色液 (Leagene, 批号

092337A21); 1% 酸性乙醇分化液、裂解液、总 RNA 提取试剂盒 (Solarbio, 批号: 20211222、20220415、20220620); SDS-PAGE 凝胶制备试剂盒、超敏 ECL 化学发光即用型底物、兔 IgG 免疫组化试剂盒 (SABC 即用型)、DAB 显色试剂盒、Goat Anti-rabbit IgG、Goat Anti-mouse IgG (Boster, 批号: 17D28C38、17E25C71、17F09B08D2622、17E10A27、BST17G08A17G54、BST17E27C17F50); GAPDH Antibody (Abways, 批号 F076409); CHRNA7 Rabbit Polyclonal antibody、核因子 κ B1 Rabbit Polyclonal antibody、核因子 κ B p65 Mouse Monoclonal antibody (Proteintech, 批号: 00096475、00095807、10017522); Anti-I κ B alpha antibody、Anti-Choline Acetyltransferase antibody (Abcam, 批号: GR275907-4、GR3412008-2); M5 Sprint qPCR RT kit with gDNA remover、Realtime PCR Super mix (MeiSbio, 批号: 22DB0705、22CK2802)。

1.4 方法

1.4.1 动物分组及模型构建 取 32 只 Wistar 大鼠, 采用随机数字表法分为健康对照组 ($n=8$)、关节炎模型组 ($n=8$)、迷走神经切断组 ($n=8$) 和假手术组 ($n=8$)。适应性饲养 1 周后, 除健康对照组外, 其余 3 组均进行胶原诱导关节炎模型构建。将牛 II 型胶原溶液和弗氏完全佐剂按体积比 1 : 1 混合为白色乳化物 (1 mg/mL), 于大鼠背部 4 点及尾根 1 点皮下注射, 每点 0.1 mL。7 d 后加强免疫, 将牛 II 型胶原溶液和弗氏不完全佐剂等比混合 (1 mg/mL), 腹腔注射 0.3 mL/只。14 d 后, 观察各组大鼠关节炎情况, 依照关节炎评分标准进行评分: 0 分, 正常; 1 分, 踝关节有红斑及轻微肿胀; 2 分, 踝关节至跖关节或掌关节有红斑及轻微肿胀; 3 分, 踝关节至掌关节或趾跖关节有红斑及中度肿胀; 4 分, 踝关节至趾跖关节有红斑及重度肿胀。关节炎评分大于 8 分即为模型构建成功。

1.4.2 颈部左侧迷走神经切断术 关节炎评分评估关节炎模型构建成功后, 对迷走神经切断组和假手术组进行手术。手术过程: ①麻醉: 大鼠称质量后, 异氟烷气体麻醉; ②固定及消毒: 采用四肢加上牙 5 点固定, 充分暴露颈部, 由内向外打圈式依次碘伏和酒精消毒; ③颈部左侧迷走神经切断及假手术: 大鼠颈前开口 2 cm, 玻璃分针分离左侧气管旁肌肉层, 暴露颈主动脉及伴行的迷走神经, 分离神经后切断 5 mm 左右, 假手术组仅分离不切断; 手术完成后复位动脉及肌肉层, 缝合消毒; ④术后护理: 术后 1 周分笼饲养, 每日严格碘伏消毒, 避免感染。

1.4.3 标本采集 迷走神经切断术后 5 周, 各组大鼠禁食过夜 (12 h)。次日异氟烷气体麻醉大鼠, 腹主动脉取血, 常温离心 (3 000 r/min 离心 10 min) 得血清, -80°C 冻存; 脱颈处死大鼠, 取左踝关节 (1.5 cm \times 0.5 cm \times 0.5 cm) 及脾脏 (1.5 cm \times 0.5 cm \times 0.5 cm), 置入 40 g/L 多聚甲醛固定, 右踝关节置于 -80°C 冻存。

1.4.4 大鼠关节及脾脏病理学检测 大鼠关节及脾脏置入 40 g/L 多聚甲醛固定 24 h 以上, 关节用 10% EDTA 脱钙液脱钙 5 周, 进行梯度乙醇脱水、二甲苯透明、浸蜡包埋、厚度 5 μm 切片、 37°C 温水摊片、60% 烤箱烤片、二甲苯脱蜡、梯度乙醇脱水后, 苏木精-伊红染色, 步骤为: 苏木精染色 2 min 30 s, 冲洗, 1% 盐酸乙醇分化液 5 s, 冲洗, 温水反蓝 3 min 30 s, 体积分数 80% 乙醇 30 s, 伊红染色 2 min, 冲洗, 梯度乙醇及二甲苯脱水透明, 中性树胶封固, 镜下观察关节及脾脏病理学变化。

1.4.5 大鼠血清炎症因子检测 采用 ELISA 试剂盒检测各组大鼠血清炎症因子白细胞介素 1、白细胞介素 6、肿瘤坏死因子 α 水平, 依照试剂盒说明书, 设置标准品孔、空白孔和待测样品孔 (3 复孔), 依次稀释、加酶、温育、洗涤、显色、终止, 于 450 nm 波长测定吸光度值, 通过标准曲线计算样品中炎症因子水平。

1.4.6 大鼠关节 α 7nAChR、ChAT、I κ B α 、核因子 κ B p50/p65 mRNA 表达 取冻存的各组大鼠关节, 液氮中研磨成粉, 依照总 RNA 提取试剂盒说明书提取关节组织总 RNA, 微量紫外分光光度计测定 RNA 浓度及纯度, -80°C 保存。反转录步骤 (20 μL 反应体系): ① 0.01-1 μg RNA 模板中加入 5 \times Sprint gDNA Remover Mix 2.0 μL , ddH₂O 补足至 10 μL , 42°C 2 min, 冰上冷却; ②上一步的反应液中加入 5 \times M5 Sprint RT Mix 4.0 μL 和 DEPC-ddH₂O 6 μL , 50°C 5 min, 85°C 5 s, -20°C 保存备用。qRT-PCR 步骤: ①配置 qRT-PCR 反应体系: Template DNA 2 μL , 2 \times Realtime PCR Super mix 10 μL , 正反向引物 (10 $\mu\text{mol/L}$) 各 0.5 μL , ddH₂O 补足至 20 μL , 每组 3 复孔; ② qRT-PCR 条件: 95°C 15 s, 60°C 15 s, 72°C 45 s, 共 50 个循环, 引物序列列表 1; ③计算: $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法计算各组大鼠目的基因表达量。

1.4.7 大鼠关节 α 7nAChR、ChAT、I κ B α 、核因子 κ B p50/p65 蛋白水平检测 取冻存的各组大鼠关节, 液氮中研磨成粉, 加入 1 mL 裂解液、10 μL 蛋白酶抑制剂和 10 μL PMSF 配

组织工程实验动物造模过程中的相关问题

造模目的	探究类风湿关节炎发病中 ChAT/ α 7nAChR/核因子 κ B 信号途径的免疫调控机制
选择动物的条件	SPF 级 6-8 周龄雌性 Wistar 大鼠, 体质量 (170 \pm 10) g
模型与所研究疾病的关系	胶原诱导性关节炎是一种经典造模方法, 可诱导实验动物关节肿胀及内部炎症性病变, 是人类风湿关节炎的理想动物模型
动物来源及品系	雌性 Wistar 大鼠, 购于北京西山昌扬养殖场
造模技术描述	①初次免疫: 牛 II 型胶原和弗氏完全佐剂等比混合为白色乳化物, 皮下 5 点注射, 每点 0.1 mL; ②加强免疫: 牛 II 型胶原和弗氏不完全佐剂同样混合, 腹腔注射 0.3 mL/只
动物数量及分组方法	采用随机数字表法将 32 只大鼠分为健康对照组、关节炎模型组、迷走神经切断组和假手术组, 每组 8 只
造模成功评价指标	依照关节炎评分标准评分, 大于 8 分为模型构建成功
造模后观察指标	①记录各实验组大鼠体质量及关节情况; ②各组大鼠关节及脾脏病理学检测; ③ ELISA 检测血清炎症因子水平; ④ qRT-PCR 检测关节 CHRNA7、ChAT、I κ B α 、核因子 κ B p50/p65 mRNA 表达; ⑤ Western blot 和免疫组化对关节 α 7nAChR、ChAT、I κ B α 、核因子 κ B p50/p65 蛋白进行检测和定位
造模后动物处理	实验动物在麻醉下进行手术, 5 周后取腹主动脉血、脾脏和踝关节
伦理委员会批准	实验已通过山西中医药大学伦理委员会批准 (2019LL156)

表 1 | 引物序列
Table 1 | Primer sequences

目的基因	登录号	引物序列 (5'-3')	产物长度 (bp)
CHRNA7	NM_012832.4	F: TCA CTG GAC CTG CAA ATG C R: TGA CAT CTG GGT ATG GCT C	133
ChAT	NM_001170593.1	F: ATT TGC AGC CTG CCT CAT CT R: GTG GGT GTC ACT GAG CTC TC	508
IκBα	NM_001105720.2	F: TGT GAT CCT GAG CTC CGA GA R: AGG GCA ACT CAT CTT CCG TG	502
核因子 κB p50	NM_001276711.1	F: AAC GCA TCC CAA GGT GCT GGA A R: GCA GCT GGA AAA GCT CAA GCC A	189
核因子 κB p65	XM_039079521.1	F: TTC CCT GAA GTG GAG CTA GGA R: CAT GTC GAG GAA GAC ACT GGA	185
GAPDH	NM_017008.4	F: ATG ACT CTA CCC ACG GCA AG R: TGG GTT TCC CGT TGA TGA CC	75

备的混合液中,于冰上静置 30 min, 4 °C 下 2 000 r/min 离心 30 min, 取上清, BCA 法检测蛋白浓度及纯度, -80 °C 保存备用。取各组蛋白 30 μg, SDS-PAGE 电泳, 5% 浓缩胶 80 V 30 min, 10% 分离胶 160 V 45 min, 湿转 230 mA 90 min 将蛋白转移至 PVDF 膜, 5% 脱脂奶粉室温摇床封闭 2 h, 分别加入一抗: GAPDH(1 : 5 000)、α7nAChR(1 : 1 000)、ChAT(1 : 5 000)、IκBα(1 : 5 000)、核因子 κB p50(1 : 1 000)、核因子 κB p65(1 : 2 000), 4 °C 孵育过夜。依据一抗种属分别加入二抗羊抗兔 IgG(1 : 5 000) 和二抗羊抗小鼠 IgG(1 : 5 000), 室温孵育 2 h, TBST 充分清洗, 超敏 ECL 即用型发光底物显色, 凝胶成像分析仪曝光显影, 利用 Image J 软件进行灰度值分析。

1.4.8 大鼠关节 α7nAChR、ChAT、IκBα、核因子 κB p50/p65 免疫组化分析 取前期已烘干的大鼠关节切片, 二甲苯及梯度乙醇中常规脱蜡脱水, 体积分数 3% H₂O₂ 室温灭活 5 min, PBS 冲洗, EDTA 抗原修复液 95 °C 10 min, 冷却至室温后 PBS 冲洗, 5% BSA 37 °C 封闭 30 min, 分别滴入 PBS 稀释的一抗: α7nAChR(1 : 600)、ChAT(1 : 500)、IκBα(1 : 50)、核因子 κB p50(1 : 200)、核因子 κB p65(1 : 300), 4 °C 过夜。二抗 37 °C 孵育 30 min, PBS 冲洗, SABC 溶液 37 °C 孵育 30 min, DAB 显色液显色 3 min, 自来水冲洗, 根据蛋白表达位置选择性进行苏木精复染, 观察关节面 α7nAChR、ChAT、IκBα、核因子 κB p50/p65 蛋白棕色阳性表达区, 利用 IHC Profiler 软件统计阳性表达区域。

1.5 主要观察指标 各组大鼠体质量、关节炎评分和关节肿胀度、脾脏及关节病理变化, 血清白细胞介素 1、白细胞介素 6、肿瘤坏死因子 α 水平, ChAT/α7nAChR/核因子 κB 通路核心基因 mRNA 及蛋白表达。

1.6 统计学分析 采用 SPSS 24.0 统计软件分析数据, 实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 3 次独立分析, 多组比较采取单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。文章统计学方法已经通过山西中医药大学基础医学院专家李振审核。

2 结果 Results

2.1 实验动物数量分析 造模过程中无大鼠死亡, 纳入的 32 只大鼠全部进入结果分析。

2.2 各组大鼠体质量及关节肿胀观察结果 各组大鼠体质量和关节肿胀情况, 见图 1。与健康对照组相比, 关节炎模型

组大鼠体质量降低 ($P < 0.05$), 关节炎评分显著增高 ($P < 0.01$), 踝关节显著肿胀; 与关节炎模型组相比, 迷走神经切断组大鼠体质量降低 ($P < 0.05$), 关节炎评分(极)显著升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 踝关节显著肿胀, 并存关节变形畸形; 与迷走神经切断组相比, 假手术组大鼠体质量增高 ($P < 0.05$), 关节炎评分(极)显著下降 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 踝关节肿胀度减轻。

2.3 各组大鼠关节及脾脏病理学检测结果 各组大鼠关节和脾脏病理学检测结果显示, 见图 2。健康对照组大鼠关节面平滑完整, 关节表面覆有滑膜细胞。关节炎模型组大鼠关节腔隙缩小, 关节面炎细胞浸润, 脾脏淋巴样白髓和主要生发中心增生明显。迷走神经切断组关节结构改变, 关节腔隙几乎消失, 关节面大量炎细胞浸润, 脾脏白髓和生发中心显著增大融合, 炎症加剧。假手术组关节腔隙增大, 炎细胞浸润减少, 脾脏白髓和生发中心减少。

2.4 各组大鼠血清炎症因子水平检测结果 与健康对照组相比, 关节炎模型组大鼠血清白细胞介素 1、白细胞介素 6、肿瘤坏死因子 α 水平(极)显著增高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 与关节炎模型组相比, 迷走神经切断组大鼠血清白细胞介素 1、白细胞介素 6、肿瘤坏死因子 α 水平(极)显著增高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 与迷走神经切断组相比, 假手术组大鼠血清白细胞介素 1、白细胞介素 6、肿瘤坏死因子 α 水平极显著降低 ($P < 0.01$), 见图 3。

2.5 各组大鼠关节中 CHRNA7、ChAT、IκBα、核因子 κB p50/p65 mRNA 表达 见图 4。

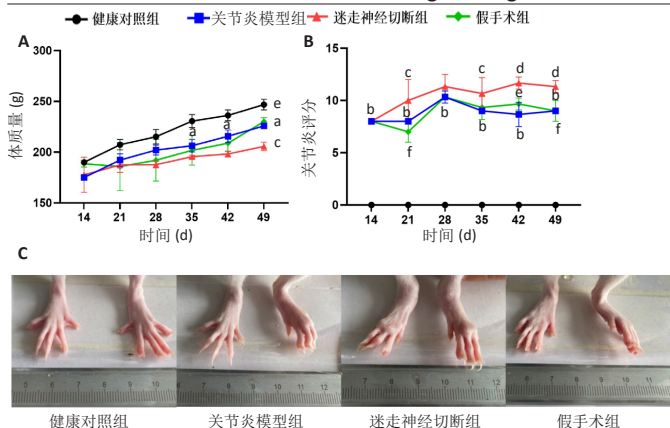
qRT-PCR 检测结果显示, 与健康对照组相比, 关节炎模型组大鼠关节 CHRNA7 mRNA 表达轻度增高, 差异无显著性意义 ($P > 0.05$), ChAT、IκBα、核因子 κB p50/p65 mRNA 表达(极)显著增高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 与关节炎模型组相比, 迷走神经切断组大鼠关节 CHRNA7、ChAT、IκBα、核因子 κB p50/p65 mRNA 表达(极)显著增高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 与迷走神经切断组相比, 假手术组大鼠关节 CHRNA7、ChAT、IκBα、核因子 κB p50/p65 mRNA 表达极显著降低 ($P < 0.01$)。

2.6 各组大鼠关节中 α7nAChR、ChAT、IκBα、核因子 κB p50/p65 蛋白表达 见图 5。

Western blot 检测结果显示, 与健康对照组相比, 关节炎模型组大鼠关节 α7nAChR、ChAT、IκBα、核因子 κB p50/p65 表达(极)显著增高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 与关节炎模型组相比, 迷走神经切断组大鼠关节 α7nAChR、ChAT、IκBα、核因子 κB p50/p65 表达(极)显著增高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 与迷走神经切断组相比, 假手术组大鼠关节 α7nAChR、ChAT、IκBα、核因子 κB p50/p65 表达(极)显著降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。

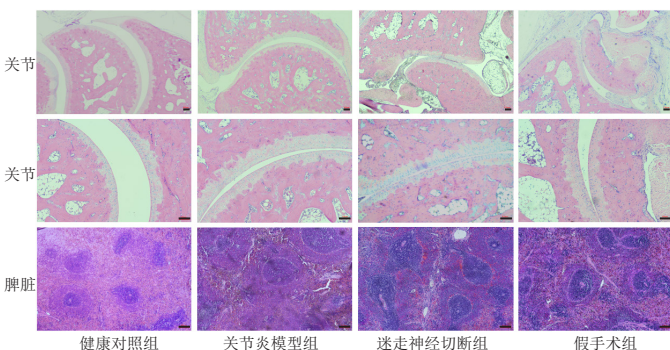
2.7 各实验组大鼠关节中 α7nAChR、ChAT、IκBα、核因子 κB p50/p65 免疫组化分析 见图 6。

免疫组化染色结果显示, 各组大鼠关节中 ChAT/α7nAChR/核因子 κB 途径均有不同程度的表达, 主要定位于关节面。与健康对照组相比, 关节炎模型组大鼠关节中



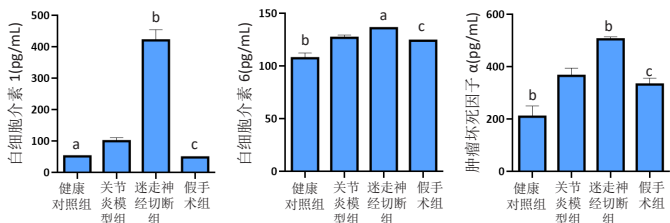
图注: A 为各组大鼠体质量; B 为各组大鼠关节炎评分; C 为术后 5 周各组大鼠踝关节肿胀度, 关节炎模型组、假手术组大鼠踝关节肿胀明显, 迷走神经切断组踝关节肿胀最严重且存在关节畸形。与健康对照组比较, $^aP < 0.05$, $^bP < 0.01$; 与关节炎模型组比较, $^cP < 0.05$, $^dP < 0.01$; 与迷走神经切断组比较, $^eP < 0.05$, $^fP < 0.01$

图 1 | 各组大鼠体质量及关节肿胀情况
Figure 1 | Body mass and joint swelling of rats in each group



图注: 关节炎模型组大鼠关节腔隙缩小, 关节面炎细胞浸润, 脾脏淋巴样白髓和主要生发中心增生明显。迷走神经切断组关节结构改变, 关节腔隙几乎消失, 关节面大量炎细胞浸润, 脾脏白髓和生发中心显著增大融合, 炎症加剧。假手术组关节腔隙增大, 炎细胞浸润减少, 脾脏白髓和生发中心减少。比例尺 = 100 μm

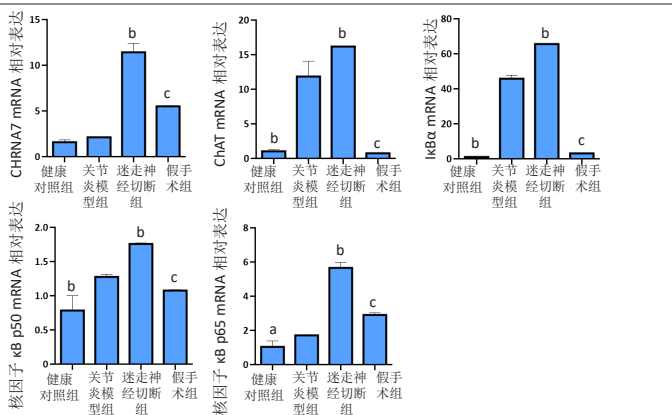
图 2 | 各组大鼠关节及脾脏病理改变情况
Figure 2 | Pathological changes in the joint and spleen of rats in each group



图注: 与关节炎模型组比较, $^aP < 0.05$, $^bP < 0.01$; 与迷走神经切断组比较, $^cP < 0.01$

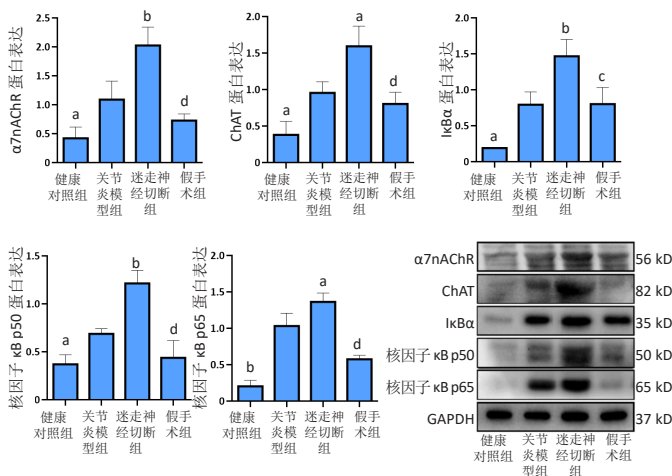
图 3 | 各组大鼠血清炎症因子水平
Figure 3 | Levels of serum inflammatory factors of rats in each group

$\alpha 7\text{nAChR}$ 、ChAT、IkB α 、核因子 kB p50/p65 表达 (极) 显著增高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 迷走神经切断组大鼠关节中 $\alpha 7\text{nAChR}$ 、ChAT、IkB α 、核因子 kB p50/p65 表达极显著高于关节炎模型组 ($P < 0.01$); 与迷走神经切断组相比, 假手术组大鼠关节 $\alpha 7\text{nAChR}$ 、ChAT、IkB α 、核因子 kB p50/p65 表达 (极) 显著降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。



图注: 与关节炎模型组比较, $^aP < 0.05$, $^bP < 0.01$; 与迷走神经切断组比较, $^cP < 0.01$ 。ChAT: 胆碱乙酰转移酶

图 4 | 各组大鼠关节中 ChRNA7、ChAT、IkB α 、核因子 kB p50/p65 mRNA 表达
Figure 4 | ChRNA7, ChAT, IkB α , and NF- κ Bp50/p65 mRNA expression in the rat joint in each group

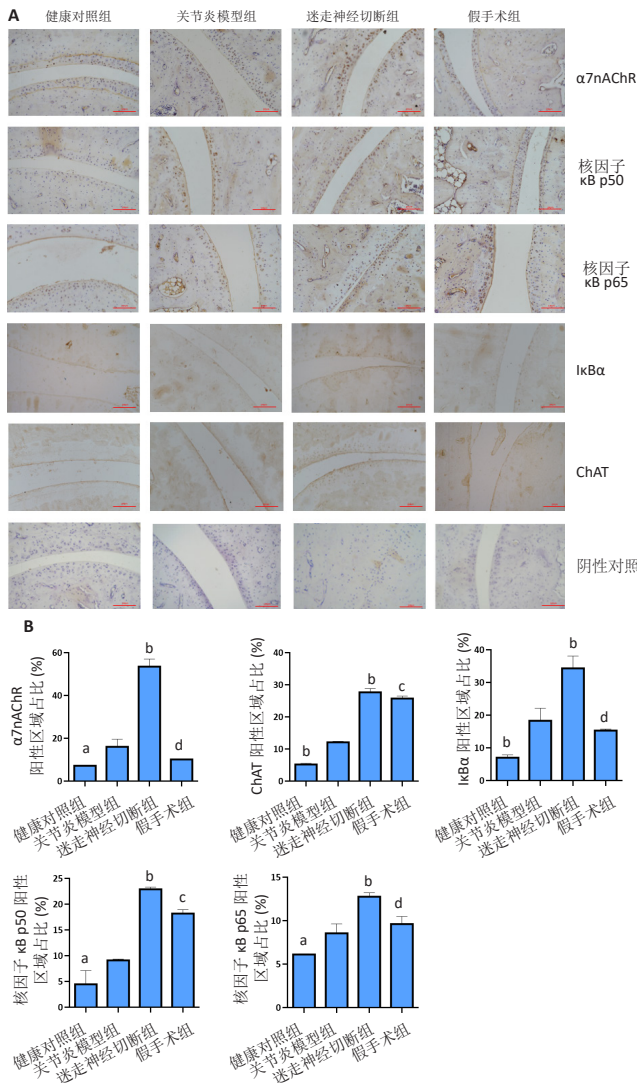


图注: 与关节炎模型组比较, $^aP < 0.05$, $^bP < 0.01$; 与迷走神经切断组比较, $^cP < 0.05$, $^dP < 0.01$ 。ChAT: 胆碱乙酰转移酶; $\alpha 7\text{nAChR}$: 烟碱乙酰胆碱 7 受体

图 5 | 各组大鼠关节中 $\alpha 7\text{nAChR}$ 、ChAT、IkB α 、核因子 kB p50/p65 蛋白表达
Figure 5 | $\alpha 7\text{nAChR}$, ChAT, IkB α , and NF- κ Bp50/p65 protein expression in the rat joint in each group

3 讨论 Discussion

类风湿关节炎作为一种慢性炎症性自身免疫性疾病, 导致骨和软骨的进行性破坏, 病因虽尚不明晰, 但炎症是其主要病理特征 [13]。VAN MAANEN 等 [6] 实验表明, 单侧切断胶原诱导关节炎小鼠迷走神经, 关节炎程度明显加剧。LI 等 [14] 的研究证实, 对比单纯胶原诱导关节炎组, 迷走神经切断导致胶原诱导关节炎小鼠关节结构明显破坏, 关节面部分融合, 骨质破坏区由增生的滑膜组织及纤维结缔组织替代。迷走神经刺激可降低循环中白细胞介素 1、白细胞介素 6 和肿瘤坏死因子 α 等促炎细胞因子水平; 迷走神经张力增强上调抗炎细胞因子白细胞介素 10 水平, 降低促炎细胞因子白细胞介素 17 水平, 诱导巨噬细胞从促炎性 M1 巨噬细胞转变为抗炎性 M2 巨噬细胞 [15]。LI 等 [16] 通过 RT-qPCR 检测得知, 脾



图注：图中 A 为免疫组化定位结果 (比例尺 =100 μm)；B 为免疫组化灰度值分析。与关节炎模型组比较，^a*P* < 0.05, ^b*P* < 0.01；与迷走神经切断组比较，^c*P* < 0.05, ^d*P* < 0.01。ChAT: 胆碱乙酰转移酶；α7nAChR: 烟碱型乙酰胆碱 7 受体

图 6 | 各组大鼠关节中 α7nAChR、ChAT、IkBα、核因子 κB p50/p65 免疫组化分析

Figure 6 | Immunohistochemical analysis of α7nAChR, ChAT, IkBα, and NF-κBp50/p65 in the rat joint in each group

脏在类风湿关节炎中的病变反应仅次于关节。核因子 κB 在免疫细胞中为 p50/p65 的二聚体，在胞质与抑制亚单位 IkBα 结合时处于失活状态，炎症时 IkBα 磷酸化泛素化降解，p50/p65 发生核易位，诱导炎症因子 (白细胞介素 1、白细胞介素 6、肿瘤坏死因子 α 等) 表达，炎症细胞因子再次刺激胞膜表面受体，磷酸化 IkBα，以此循环 [17-18]。此次实验发现，迷走神经切断明显降低胶原诱导关节炎大鼠体质量 (*P* < 0.05)，(极) 显著升高关节炎评分 (*P* < 0.05, *P* < 0.01)，加剧胶原诱导关节炎大鼠踝关节肿胀度，破坏关节面及关节腔隙，造成脾脏淋巴样白髓和主要生发中心增大融合，(极) 显著升高血清中炎症因子白细胞介素 1、白细胞介素 6 和肿瘤坏死因子 α 水平 (*P* < 0.05, *P* < 0.01)，提示切断迷走神经加剧了机体的炎症状态。

神经系统和免疫系统是人体两大中心系统，通过复杂网络双向沟通 [19]。经典胆碱能抗炎通路的作用机制为：胆碱和乙酰辅酶 A 在 ChAT 作用下合成迷走神经的主要神经递质乙酰胆碱，乙酰胆碱激活 α7nAChR 并相互作用，通过核因子 κB 信号通路降低白细胞介素 1、白细胞介素 6、肿瘤坏死因子 α 等炎症因子表达，抑制炎症反应 [20-23]。迷走神经是重要的体脑连接通道，主要用于维持机体平衡 [24-25]，具有抗炎及调节疼痛的作用 [26-27]。研究证明，白细胞介素 1β 上调迷走神经兴奋性，中枢系统通过迷走神经调节白细胞介素 1β 引发的发热反应 [17, 28]；在类风湿关节炎患者中，迷走神经电刺激可抑制循环外周细胞的炎症情况 [29]。LEVINE 等 [30] 通过神经切断、电刺激等多种方法，最终确定迷走神经介导胆碱能抗炎通路。烟碱型乙酰胆碱受体在中枢神经系统、周围神经系统和肌肉组织中广泛分布 [31]，CHRNA7(编码 α7nAChR) 可控制其他神经递质的释放 [32]。α7nAChR 是副交感神经系统介导的抗炎作用的重要调节因子，不仅存在于神经元上，还在免疫细胞和成纤维样滑膜细胞上高度表达 [33]。大量研究表明，α7nAChR 表达于各种免疫细胞的细胞膜上，迷走神经兴奋剂和胆碱能激动剂可激活 α7nAChR，作为关键要素参与胆碱能抗炎通路 [34-35]。α7nAChR 通过抑制 IkBα 泛素化降解，参与核因子 κB 信号通路，减少炎症细胞因子的释放，调节局部或全身炎症反应 [36]。Li 等 [16] 研究证明，胶原诱导关节炎模型组大鼠关节和脾脏的 CHRNA7 表达水平显著高于对照组 (*P* < 0.05)，进一步说明了 α7nAChR 参与类风湿关节炎发生发展。为更系统地了解类风湿关节炎作用机制，实验从 ChAT/α7nAChR/核因子 κB 信号通路角度出发，研究迷走神经与类风湿关节炎作用关系。结果显示，迷走神经切断 (极) 显著增加了胶原诱导关节炎大鼠关节中 IkBα 和核因子 κBp50/p65 mRNA 及蛋白水平表达 (*P* < 0.01, *P* < 0.05)，提示该炎症反应与核因子 κB 信号通路密切相关；而切断迷走神经后理论上表达降低的 α7nAChR 和 ChAT mRNA 及蛋白表达水平极显著升高 (*P* < 0.01)，伴大鼠关节炎程度明显加重，可能是由于胆碱能抗炎通路的异常状态加剧炎症后，诱发自身抗炎反应，ChAT 和 α7nAChR 一过性升高，然而其高表达并不足以抑制机体炎症发展，类风湿关节炎发展进程仍在继续。

综上所述，迷走神经通过调控胆碱能抗炎通路刺激 ChAT/α7nAChR/核因子 κB 信号传导途径，单侧切断后诱发严重关节病变，加剧类风湿关节炎的疾病进程。实验立足于胆碱能抗炎通路研究类风湿关节炎发病进程中 ChAT/α7nAChR/核因子 κB 信号途径的免疫调控机制，为后续类风湿关节炎治疗提供潜在靶标。

作者贡献：实验设计为李振，实验实施为李玉彤，实验评估为李玉彤、刘静淑，资料收集为李玉彤、刘静淑，李玉彤成文，李振审核。

利益冲突：文章的全部作者声明，在课题研究和文章撰写过程中不存在利益冲突。

开放获取声明：这是一篇开放获取文章，根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享 4.0”条款，在合理引用的情况下，

允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展，同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献，并为之建立索引，用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

版权转让：文章出版前全体作者与编辑部签署了文章版权转让协议。

出版规范：该研究遵守国际医学期刊编辑委员会《学术研究实验与报告和医学期刊编辑与发表的推荐规范》。文章出版前已经过专业反剽窃文献检测系统进行3次查重。文章经小同行外审专家双盲外审，同行评议认为文章符合期刊发稿宗旨。

4 参考文献 References

- [1] FIRESTEIN GS, BUDD RC, GABRIEL SE. 凯利风湿病学 [M].10 版. 栗占国等, 译. 北京: 北京大学医学出版社, 2020:1.
- [2] SPARKS JA. Rheumatoid Arthritis. *Ann Intern Med.* 2019;170(1):ITC1-ITC16.
- [3] LV J, JI X, LI Z, et al. The role of the cholinergic anti-inflammatory pathway in autoimmune rheumatic diseases. *Scand J Immunol.* 2021; 94(4):e13092.
- [4] YUAN H, SILBERSTEIN SD. Vagus nerve and vagus nerve stimulation, a comprehensive review: part I. Headache. 2016;56(1):71-78.
- [5] BUTT MF, ALBUSODA A, FARMER AD, et al. The anatomical basis for transcutaneous auricular vagus nerve stimulation. *J Anat.* 2020;236(4): 588-611.
- [6] VAN MAANEN MA, VERVOORDELONK MJ, TAK PP. The cholinergic anti-inflammatory pathway: towards innovative treatment of rheumatoid arthritis. *Nat Rev Rheumatol.* 2009;5(4):229-232.
- [7] DI LASCIO S, FORNASARI D, BENFANTE R. The Human-Restricted Isoform of the $\alpha 7$ nAChR, CHR7A: A Double-Edged Sword in Neurological and Inflammatory Disorders. *Int J Mol Sci.* 2022;23(7): 3463.
- [8] WINICK-NG W, CAETANO FA, WINICK-NG J, et al. 82-kDa choline acetyltransferase and SATB1 localize to β -amyloid induced matrix attachment regions. *Sci Rep.* 2016;6(1):1-17.
- [9] 王东岩, 杨海永, 董旭, 等. 针刺调控 $\alpha 7$ nAChR 激活胆碱能抗炎通路的研究现状 [J]. *上海针灸杂志*, 2020,39(1):116-122.
- [10] 殷勤, 吴义金. 基于胆碱能抗炎通路对炎症治疗及其相关信号机制研究 [J]. *中国药物经济学*, 2020,15(7):119-123.
- [11] 樊文香, 张锦璐, 徐驰. $\alpha 7$ 烟碱型乙酰胆碱受体在中枢神经系统性性疾病中作用的研究进展 [J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2021,26(9): 1065-1072.
- [12] 秦雨涵, 侯宏卫, 胡清源. $\alpha 7$ 烟碱型乙酰胆碱受体在胆碱能抗炎通路中的作用机制及应用现状 [J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2022,38(10):1304-1310.
- [13] EBERHARDSON M, TARNAWSKI L, CENTA M, et al. Neural control of inflammation: bioelectronic medicine in treatment of chronic inflammatory disease. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2020;10(3): a034181.
- [14] LI T, ZUO X, ZHOU Y, et al. The vagus nerve and nicotinic receptors involve inhibition of HMGB1 release and early pro-inflammatory cytokines function in collagen-induced arthritis. *J Clin Immunol.* 2010; 30(2):213-220.
- [15] RASMUSSEN SE, PFEIFFER-JENSEN M, DREWES AM, et al. Vagal influences in rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol.* 2018;47(1):1-11.
- [16] LI Z, HAO H, GAO Y, et al. Expression and localization analyses of the cholinergic anti-inflammatory pathway and $\alpha 7$ nAChR in different tissues of rats with rheumatoid arthritis. *Acta Histochem.* 2019;121(6):742-749.
- [17] SEYEDABADI M, RAHIMIAN R, GHIA JE. The role of $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptors in inflammatory bowel disease: involvement of different cellular pathways. *Expert Opin Ther Targets.* 2018;22(2): 161-176.
- [18] 张艳艳, 刘伟, 张超, 等. 基于胆碱能抗炎通路的类风湿关节炎治疗机制与中医药作用机制研究进展 [J]. *山东中医杂志*, 2018,37(12): 1038-1040.
- [19] IMAMURA M, MUKAINO A, TAKAMATSU K, et al. Ganglionic acetylcholine receptor antibodies and autonomic dysfunction in autoimmune rheumatic diseases. *Int J Mol Sci.* 2020;21(4):1332.
- [20] MURRAY K, REARDON C. The cholinergic anti-inflammatory pathway revisited. *Neurogastroenterol Motil.* 2018;30(3):10.1111/nmo.13288.
- [21] FERREIRA-VIEIRA TH, GUIMARAES IM, SILVA FR, et al. Alzheimer's disease: targeting the cholinergic system. *Curr Neuropharmacol.* 2016; 14(1):101-115.
- [22] HAJIASGHARZADEH K, KHABBAZI A, MOKHTARZADEH A, et al. Cholinergic anti-inflammatory pathway and connective tissue diseases. *Inflammopharmacology.* 2021;29(4):975-986.
- [23] 项水英, 丛文娟, 刘自兵. 胆碱能抗炎通路及其在中医药抗炎效应中的研究进展 [J]. *辽宁中医药大学学报*, 2018,20(2):140-143.
- [24] PRESCOTT SL, LIBERLES SD. Internal senses of the vagus nerve *Neuron.* 2022;110(4):579-599.
- [25] BUTT MF, ALBUSODA A, FARMER AD, et al. The anatomical basis for transcutaneous auricular vagus nerve stimulation. *J Anat.* 2020;236(4): 588-611.
- [26] YUAN H, SILBERSTEIN SD. Vagus nerve and vagus nerve stimulation, a comprehensive review: part I. Headache. 2016;56(1):71-78.
- [27] YUAN H, SILBERSTEIN SD. Vagus nerve and vagus nerve stimulation, a comprehensive review: part II. Headache. 2016;56(2):259-266.
- [28] CHAVAN SS, TRACEY KJ. Essential neuroscience in immunology. *J Immunol.* 2017;198(9):3389-3397.
- [29] COURTIÉS A, BERENBAUM F, SELLMAN J. Vagus nerve stimulation in musculoskeletal diseases. *Joint Bone Spine.* 2021;88(3):105149.
- [30] LEVINE YA, FALTYS M, CHERNOFF D. Harnessing the inflammatory reflex for the treatment of inflammation-mediated diseases. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2020;10(1):a034330.
- [31] HOOVER DB. Cholinergic modulation of the immune system presents new approaches for treating inflammation. *Pharmacol Ther.* 2017; 179:1-16.
- [32] VALENTINE G, SOFUOGLU M. Cognitive effects of nicotine: recent progress. *Curr Neuropharmacol.* 2018;16(4):403-414.
- [33] CHEUNG TT, MCINNES IB. Future therapeutic targets in rheumatoid arthritis. *Semin Immunopathol.* 2017;39(4):487-500.
- [34] KOOPMAN FA, STOOF SP, STRAUB RH, et al. Restoring the balance of the autonomic nervous system as an innovative approach to the treatment of rheumatoid arthritis. *Mol med.* 2011;17(9):937-948.
- [35] 张胜凯, 李红兵, 张程, 等. 胆碱能系统对脓毒症炎症与免疫调控机制的研究进展 [J]. *实用心脑血管病杂志*, 2021,29(10):132-140.
- [36] WU Y, WANG L, JI C, et al. The role of $\alpha 7$ nAChR-mediated cholinergic anti-inflammatory pathway in immune cells. *Inflammation.* 2021;44(3): 821-834.

(责任编辑: GW, ZN, ZJP)