

· 基础研究 ·

1,25 二羟基维生素 D3 对强直性脊柱炎巨噬细胞极化的作用

张恒维, 刘晓伟, 段康颖, 张增山, 翟凯, 田云虎*

(潍坊医学院附属医院脊柱外科, 山东潍坊 261031)

摘要: [目的] 探讨 1,25 二羟基维生素 D3 对强直性脊柱炎 (ankylosing spondylitis, AS) 患者巨噬细胞极化的作用以及其对 Toll 样受体 4 (toll-like receptor 4, TLR4) /髓样分化因子 88 (myeloid differentiation factor 88, MyD88) /核因子- κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 信号通路的调节。[方法] 以佛波酯诱导人单核细胞株 THP1 分化为巨噬细胞。正常组加入 5% 的健康体检者的血清, AS 组加入 5% 的 AS 患者的血清, 试验组加入 5% 的 AS 患者的血清, 再添加 1 ml 的 100 nmol/L 的 1,25-二羟基维生素 D3 溶液。ELISA 法检测各组细胞上清液中 IL-10、IL-6、TNF- α 的含量。Western blot 检测各组细胞信号通路相关蛋白的表达。[结果] 与正常组相比, AS 组和试验组细胞上清液中 IL-10 的含量明显下降 ($P < 0.05$), 细胞上清液中 IL-6、TNF- α 的含量, 细胞中 TLR4、MyD88、NF- κ B 的表达明显增加 ($P < 0.05$); 与 AS 组比较, 试验组细胞上清液中 IL-10 的含量明显增加 ($P < 0.05$), 细胞上清液中 IL-6、TNF- α 、细胞中 TLR4、MyD88、NF- κ B 的表达的含量明显降低 ($P < 0.05$)。[结论] 1,25-二羟基维生素 D3 可能通过 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路, 调节强直性脊柱炎患者巨噬细胞的极化过程。

关键词: 强直性脊柱炎, 1,25 二羟基维生素 D3, 巨噬细胞极化, Toll 样受体 4/髓样分化因子 88/核因子- κ B 信号通路

中图分类号: R318 **文献标志码:** A **文章编号:** 1005-8478 (2022) 15-1395-06

Role of 1,25-dihydroxyvitamin D3 on the polarization of macrophages in ankylosing spondylitis // ZHANG Heng-wei, LIU Xiao-wei, DUAN Kang-ying, ZHANG Zeng-shan, ZHAI Kai, TIAN Yun-hu. Department of Spinal Surgery, Affiliated Hospital, Weifang Medical College, Weifang 261031, China

Abstract: [Objective] To investigate the effect of 1,25 dihydroxyvitamin D3 on macrophage polarization in ankylosing spondylitis (AS) and its regulation mechanism by Toll-like receptor 4 (TLR4) /myeloid differentiation factor 88 (MyD88) /nuclear factor- κ B (NF- κ B) signal pathway. [Methods] Phorbol ester was used to induce human monocyte line THP1 differentiate into macrophages. Subsequently, the cells were cultured with 5% serum of healthy subjects (normal group), 5% AS patient's serum (the AS group), whereas 5% serum of AS patients, and 1 ml of 100 nmol/L 1,25-dihydroxyvitamin D3 solution (the trial group). ELISA method was used to detect the content of interleukin-10 (IL-10), IL-6 and tumor necrosis factor- α (TNF- α) in the supernatant of each group of cells. Western blot was used to detect the cell signaling pathway related protein expression. [Results] Compared with the normal group, the AS group and the trial group had significantly decreased IL-10 in the cell supernatant, while significantly increased IL-6 and TNF- α in the cell supernatant, as well as the expression of TLR4, MyD88, NF- κ B, which were statistically significant (all $P < 0.05$). Compared with the AS group, the trial group had significantly increased IL-10 content in the cell supernatant, whereas significantly decreased IL-6 and TNF- α , as well as expression levels of TLR4, MyD88, and NF- κ B with statistically significant differences ($P < 0.05$). [Conclusion] 1,25-dihydroxyvitamin D3 might regulate polarization process of macrophages in ankylosing spondylitis by the TLR4/MyD88/NF- κ B signaling pathway.

Key words: ankylosing spondylitis, 1,25 dihydroxyvitamin D3, macrophage polarization, toll-like receptor 4 / myeloid differentiation factor 88 / nuclear factor- κ B signaling pathway

强直性脊柱炎 (ankylosing spondylitis, AS) 是一种好发于青壮年男性的慢性、进展性的炎症性自身免疫性疾病^[1]。该病不但容易累及中轴以及下肢关节病

变, 造成骨关节系统功能障碍, 还可诱发炎症肠病以及急性虹膜炎等胃肠和眼部疾病, 并且该病还可导致动脉硬化症状的发生, 是高血压等心血管疾病的高风

DOI:10.3977/j.issn.1005-8478.2022.15.11

作者简介: 张恒维, 硕士研究生, 主治医师, 研究方向: 脊柱外科, (电话)18053633185, (电子信箱)165658385@qq.com

* 通信作者: 田云虎, (电话)13953662896, (电子信箱)tianyunhug@163.com

险因素^[2]。遗传、环境以及感染均可导致该病的发生,但AS较为确切的发病机制以及病情进展机制尚未完全阐明。近来随着对AS研究的不断深入,Deodhar等^[3]报道,AS的病情进展与炎性介质介导的免疫抑制关系密切。Park等^[4]研究证实单核巨噬细胞在AS的炎症进展以及免疫应答过程中发挥了重要作用。Li^[5]研究表明,在应激条件下,Toll样受体4(toll like receptor, TLR4)等多种基因被激活,参与体内免疫调节过程,同时巨噬细胞极易极化成(classically activated type 1, M1) / (classically activated type 2, M2)不同的亚型,作为对不同细胞刺激应答,这对炎症进展以及器官组织修复发挥关键性的作用。Kiltz等^[6]研究证实增强AS患者血清中巨噬细胞向M2型的转化,能明显改善疾病对骨关节的损伤程度。大量的临床研究证实,血清中维生素D被活化为1,25-二羟基维生素D3 [25(OH)D3],与特异性受体结合,不仅参与患者骨质代谢,还能抑制促炎分子肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α),白介素-6 (interleukin-6, IL-6)等的释放,参与AS的病情进展^[7]。目前有关1,25-二羟基维生素D3对巨噬细胞的极化的影响的报道较少。本研究通过对巨噬细胞进行体外培养,探讨1,25-二羟基维生素D3对巨噬细胞的极化的作用机制,希望能为AS的临床治疗提供基础数据支撑。

1 材料与方法

1.1 研究对象

人单核细胞株 THP1 购自中科院上海细胞生物学研究所。

选取2018年3月—2019年3月来本院风湿免疫科就诊的20例AS初诊患者作为研究对象,男15例,女5例,年龄16~38岁,平均(32.27 \pm 4.83)岁。纳入标准:所有患者均符合1984年AS诊断标准;排除标准:伴有严重的肝肾功能不全;患有恶性肿瘤;合并其他部位感染;在入组3个月前服用过免疫抑制剂、使用过1,25-二羟基维生素D3及激素等影响免疫功能的药物;年龄超过40岁,且在门诊被2位主任医师确诊为IV级骶髂关节炎。同时选取20名健康体检者作为对照组,男15例,女5例,年龄16~38岁,平均(32.27 \pm 4.83)岁。本研究经医院伦理委员会批准,所有研究对象均对本研究的目的知情并签署同意书。所有入组研究对象均被要求空腹12h,并在次日早上6:30~7:30以肝素钠抗凝抽

取空腹静脉血5ml,离心分离血浆,转至-20℃冰箱待用。

1.2 细胞体外分组处理

正常组:THP1细胞的培养基中加入5%的对照组血清。AS组:THP1细胞的培养基中加入5%的AS患者的血清。试验组:THP1细胞的培养基中加入5%的AS患者的血清,再添加1ml的100nmol/L的1,25-二羟基维生素D3溶液^[8]。将细胞常规培养48h后,分别加入160nmol/L佛波酯诱导THP1细胞分化^[9]。

1.3 检测指标

1.3.1 细胞形态观察

进行诱导分化后,各组细胞常规培养24h,IX-plore Pro倒置相差显微镜观察。

1.3.2 流式细胞检测^[10]

将细胞常规培养48h后,分别加入160nmol/L佛波酯,继续培养24h后,收集各组细胞,经PBS制成单细胞悬浮液,加入CD206和CD68抗体,孵育PBS稀释,上流式细胞仪检测。

1.3.3 ELISA法检测

将细胞常规培养48h后,收集上清液,ELISA检测各组细胞上清液中IL-10、IL-6、TNF- α 的含量。

1.3.4 基因生物芯片分析

根据试剂盒要求进行分离RNA,标记,杂交,采用GeneChip Gene Pixpro V6.0系统进行扫描图像,并进行RNA的聚类分析,绘制基因热图^[11]。

1.3.5 实时荧光定量聚合酶链反应(real-time quantitative polymerase chain reaction, RT-qPCR)分析

常规提取各组细胞的总RNA,测定纯度和完整度,逆转录合成cDNA,PCR仪进行扩增。GAPDH作为内参;以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 来表示基因的相对表达量^[12]。各目的基因的引物序列由生工生物(中国上海)有限公司合成,见表1。

1.3.6 Western blot检测

将细胞常规培养48h后,分别加入160nmol/L佛波酯,继续在培养箱中培养24h,经裂解、离心后,收集各组细胞,按试剂盒要求进行电泳加入一抗,孵育,加入二抗,显色,封片,拍照,并以GAPDH作为内参蛋白^[13],计算蛋白的相对表达量。

1.4 统计学方法

采用SPSS 16.0软件对数据进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,资料符合正态分布,组间比较采用单因素方差分析,两两组间比较采

用独立样本 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

表1 各基因的引物序列

基因	序列	长度 (bp)
TLR4	上游引物 CGGAGCTTTGAACAAAGAGTG	25
	下游引物 TCTCTACTCTCGTACACTTC	26
MMP1	上游引物 AGCTCAGTACCAGCGGGAGT	30
	下游引物 TGGAAAGGTGGCATTGAAGAC	28
MMP10	上游引物 TGTGAGACCAACAGCCTGAC	20
	下游引物 GTCAAATAGCTGACTCTTGGC	18
GAPDH	上游引物 CCTGTCTCGATAAGACCAAGTT	22
	下游引物 CTCCTGTTTCATAGATGTCACGGAT	20

备注: MMP1: 基质金属蛋白酶-1

2 结果

2.1 各组细胞形态的变化

各组细胞常规培养 24 h 后倒置相差显微镜所见如图 1。正常组细胞贴壁生长良好, 呈现出饱满圆润的性态, 形状较为规整, 胞核较为稳定的定位在胞质中; AS 组细胞分化严重, 细胞胞体狭长, 体积增大, “伪足”样凸起清晰可辨, 且数量较多, 视野里的细胞形状不规则, 多呈梭形; 试验组细胞的体积明显减小, 细胞分化情况明显改善, “伪足”样凸起数量减少, 视野中的细胞形状有恢复近圆状态的趋势。

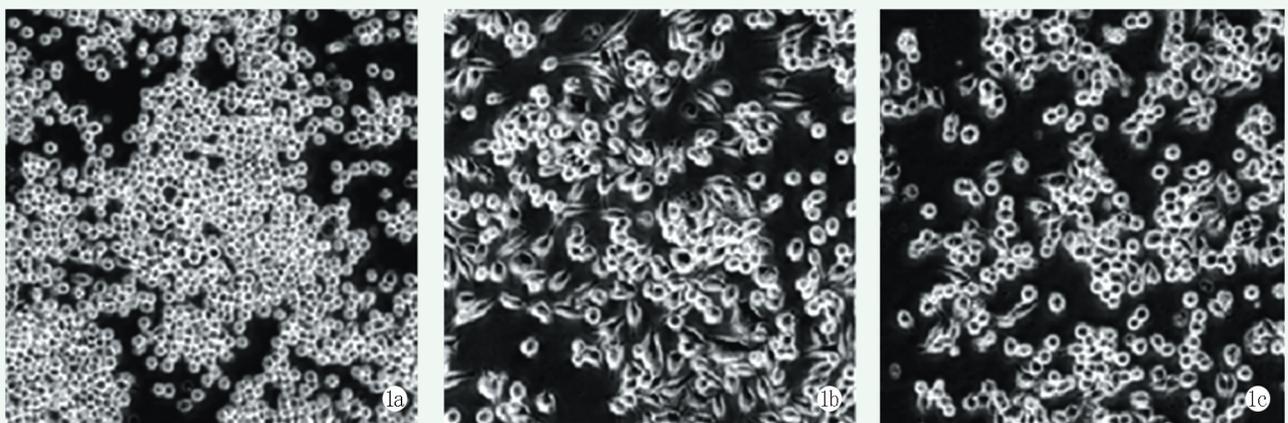


图1 各组细胞形态的变化 (×400) 1a: 正常组细胞贴壁生长良好, 呈现出饱满圆润的性态, 形状较为规整 1b: AS 组细胞分化严重, 细胞胞体狭长, 体积增大 1c: 试验组细胞的体积明显减小, 细胞分化情况明显改善, “伪足”样凸起数量减少

2.2 各组细胞中 CD206 和 CD68 阳性细胞的比例变化

流式细胞术结果见图 2 及表 2, 与正常组比较, AS 组和试验组细胞 CD206 阳性细胞的比例明显降低, CD68 阳性细胞的比例明显增加, 差异均具有统

计学意义 ($P < 0.05$); 与 AS 组比较, 试验组细胞 CD206 阳性细胞的比例明显增加, CD68 阳性细胞的比例明显降低, 差异均具有统计学意义 ($P < 0.05$)。

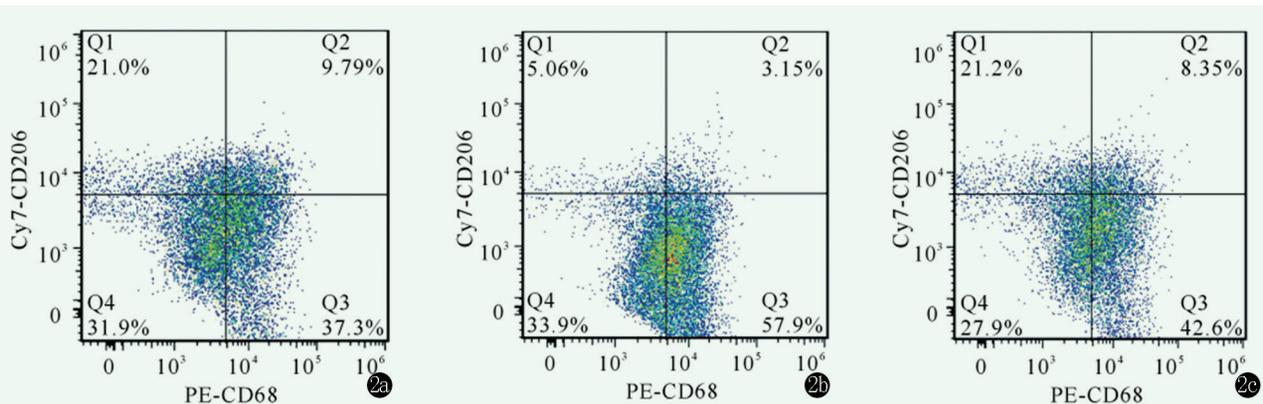


图2 流式细胞检测各组细胞中 CD206 和 CD68 阳性细胞的比例变化 2a: 正常组 2b: AS 组 2c: 试验组

表 2 各组细胞中 CD206 和 CD68 阳性细胞的比例变化
($\bar{x} \pm s$, %)

指标	正常组 (n=8)	AS 组 (n=8)	试验组 (n=8)	P 值
CD206	30.35±1.67	7.42±2.56	30.13±1.06	<0.001
CD68	50.71±2.05	65.28±2.69	56.17±0.95	<0.001

2.3 各组细胞上清液中 IL-10、IL-6 及 TNF- α 的含量

ELISA 检测结果见表 3。与正常组相比, AS 组和试验组细胞上清液中 IL-10 的含量明显下降, IL-6、TNF- α 的含量明显升高, 差异均具有统计意义 (均 $P < 0.05$); 与 AS 组相比, 试验组细胞上清液中 IL-10 的含量明显升高, IL-6、TNF- α 的含量明显下降, 差异均具有统计意义 (均 $P < 0.05$)。

2.4 基因生物芯片分析以及 qRT-PCR 分析确定 1, 25-二羟基维生素 D3 作用的靶基因

对正常组、AS 组和试验组细胞进行基因芯片检测, 分析差异基因的表达, 选取 Top3 差异表达的基因, 依次为 TLR4、MMP1、MMP10。qRT-PCR 结果见表 4, 与正常组相比, AS 组和试验组中 TLR4 的 mRNA 相对表达明显升高, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$); 与 AS 组相比, 试验组 TLR4 的 mRNA 相对表达明显降低, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$), MMP1、MMP10 的 mRNA 相对表达无明显变化 ($P > 0.05$)。说明 TLR4 为 1,25-二羟基维生素 D3 作用靶基因。

表 3 ELISA 检测各组细胞上清液中细胞因子
($\bar{x} \pm s$, pg/L) 与比较

指标	正常组 (n=8)	AS 组 (n=8)	试验组 (n=8)	P 值
IL-10	38.22±1.23	9.34±2.66	28.47±2.01	<0.001
IL-6	8.05±0.36	97.61±1.82	38.44±1.73	<0.001
TNF- α	40.11±10.28	247.29±15.69	147.88±12.93	<0.001

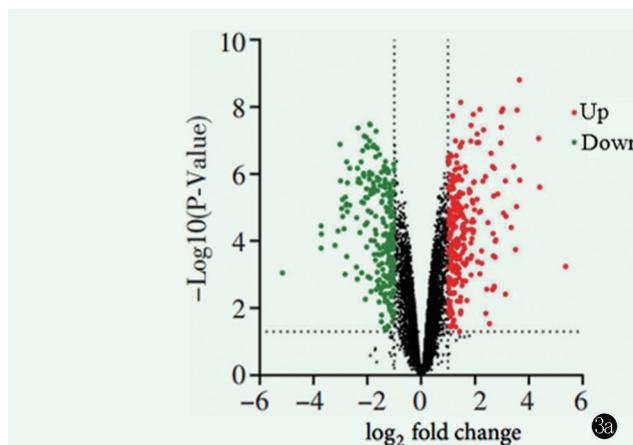
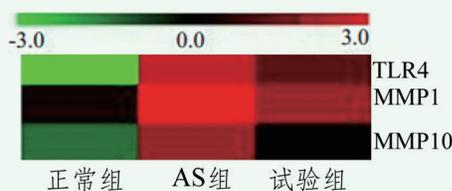


图 3 TLR4 为 1,25-二羟基维生素 D3 作用靶基因



3a: 差异表达基因的火山图 3b: 差异表达基因的热图

表 4 qRT-PCR 检测各组细胞上清液中 mRNA 相对表达量
($\bar{x} \pm s$) 与比较

指标	正常组 (n=8)	AS 组 (n=8)	试验组 (n=8)	P 值
TLR4	1.00±0.05	3.45±0.25	2.15±0.16	<0.001
MMP1	0.98±0.06	1.01±0.04	0.94±0.05	0.347
MMP10	0.99±0.07	0.97±0.06	0.92±0.07	0.189

2.5 各组细胞信号通路相关蛋白的表达

Western blot 检测各组细胞中信号通路蛋白的表达的结果见图 4 及表 5。与正常组相比, AS 组和试验组细胞中 TLR4、MyD88、NF- κ B 的表达明显升高, 与 AS 组相比, 试验组细胞中 TLR4、MyD88、NF- κ B 的表达明显降低, 差异均具有统计学意义 ($P < 0.05$)。

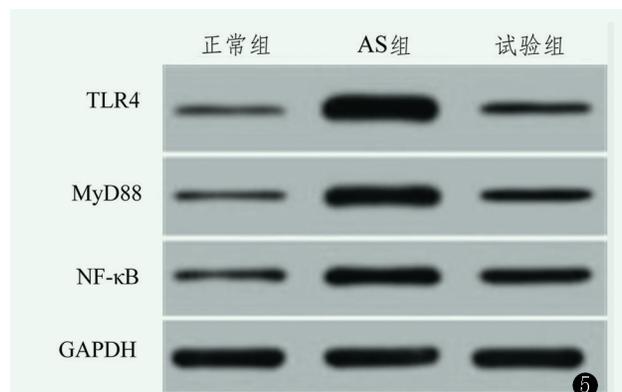


图 4 Western blot 检测各组细胞中信号通路蛋白的表达电泳印迹图

3 讨论

高致残率和高致畸率的 AS 的发病率呈现出日益

升高的趋势, 严重威胁人类健康。由于该病的发病较为隐匿, 没有可监测的早期典型性症状, 导致大部分患者在确诊时已错过最佳治疗时机, 给患者的骨关节系统造成永久的不可逆的损伤, 严重影响生活和生存质量^[14]。因 AS 的病因及发病机制尚处在探索阶段, 尚无根治性措施使 AS 患者免于疾病困扰。而 AS 自身具有较强的异质性, 疾病的轻重程度差异较大, 目前临床主要采用非甾体抗炎类药物以及生物制剂或糖皮质激素、骨科矫正术以及康复训练来缓解症状^[15]。但是在干预疾病的病情中, 提高患者自身的免疫功能, 改善患者的生命质量一直是临床工作者研究的热点之一。

表5 Western blot 检测各组细胞中细胞号通路相关蛋白的相对表达量 ($\bar{x} \pm s$) 与比较

指标	正常组 (n=8)	AS组 (n=8)	试验组 (n=8)	P 值
TLR4	1.01±0.05	5.67±0.28	3.25±0.12	<0.001
MyD88	0.97±0.06	4.71±0.17	2.81±0.14	<0.001
NF-κB	1.00±0.07	4.12±0.33	2.37±0.25	<0.001

在 AS 患者的免疫机制的调节中, 越来越多的研究学者关注非特异性免疫应答的效应细胞——单核巨噬细胞的作用。Sharif 等^[16]临床研究证实骶髂关节、脊柱和髋关节的滑膜组织中的巨噬细胞是 AS 炎性浸润的靶细胞之一。在正常生理条件下, 机体内的巨噬细胞处于 M1 和 M2 共同调节的稳态中; 在进行免疫应答过程中, 单核巨噬细胞在 M1 和 M2 的表型转换被称为巨噬细胞的极化。以 IL-6、TNF-α 为细胞标志分子的 M1 型主要负责杀灭病原微生物以及正常组织细胞; 以 IL-10、CD206 为细胞标志分子的 M2 型主要介导组织修复以及体液免疫过程调节^[17]。大量的研究证实, 作为多年龄段都适用的一种营养补充剂, 1,25-二羟基维生素 D3 具有良好的免疫调节作用^[18]。Miler 等^[19]研究证实 1,25-二羟基维生素 D3 能增强类风湿患者的免疫功能, 缓解疼痛, 改善临床症状。但有关 1,25-二羟基维生素 D3 在 AS 中的报道, 尤其是 1,25-二羟基维生素 D3 对单核巨噬细胞的极化的报道较少。本研究通过添加 AS 患者的血清对单核巨噬细胞进行体外培养, 显微镜下观察各组细胞发现, AS 组细胞呈现出明显的 M1 型“伪足”样分化趋势, 而添加 1,25-二羟基维生素 D3 后, 试验组细胞的“伪足”样凸起明显减少, 说明 M2 型巨噬细胞的吞噬功能发挥了效用, 初步证明维生素 D 具有调控 AS 患者巨噬细胞的极化的作用。本研究采用 CD68 作为巨噬细胞的生物标记分子, 以 CD206 和

IL-10 作为 M2 型巨噬细胞的生物标记物, IL-6、TNF-α 作为细胞标志分子的 M1 型巨噬细胞的生物标记物, 采用流式细胞术和 ELISA 法进行深入研究, 结果显示, AS 组细胞的 CD68 较正常组明显升高, 细胞上清液中 IL-6、TNF-α 的含量明显升高, CD206 以及上清液中 IL-10 的含量明显下降, 与 AS 组相比, 添加 1,25-二羟基维生素 D3 后, 上述趋势发生逆转, 说明 1,25-二羟基维生素 D3 能明显调控巨噬细胞表型的转换。

大量的临床以及动物实验数据证实, 炎症在 AS 的发病以及病情进展中发挥了关键性作用^[20]。而 TLR4/MyD88/NF-κB 信号是机体内重要的炎症介导通路。Zhao 等^[21]研究指出 TLR4 主要在上皮细胞、巨噬细胞以及内皮细胞中表达, 参与调控细胞增殖、凋亡以及细胞损伤等生理病理过程。研究表明 TLR4 极易被 TNF-α、IL-6 等炎性因子激活, 传递炎性信号至胞内 MyD88, 募集相关炎性因子的转录因子和趋化因子, 使炎症性信号发生级联放大, 使染色质中的 NF-κB 发生核移位, 导致炎症应激呈现“瀑布样”进展, 致使细胞损伤情况加剧^[22]。本研究采用基因芯片技术证实 TLR4 基因在三组细胞中的差异性表达, 并且这一差异性表达被 qRT-PCR 所证实, 说明 1,25-二羟基维生素 D3 对 TLR4 基因的调控作用。进一步的 Western blot 实验验证在 AS 患者巨噬细胞发生极化的过程中, 1,25-二羟基维生素 D3 对 TLR4/MyD88/NF-κB 信号的调控机制。

综上所述, 1,25-二羟基维生素 D3 能调控 TLR4/MyD88/NF-κB 信号, 调节强直性脊柱炎患者巨噬细胞的极化过程, 发挥免疫调节作用, 但这一调控作用如何应用到对强直性脊柱炎的治疗, 还需要考虑药物的剂量、患者病情的个体差异性以及适应性。

参考文献

- [1] Sirisena D, Chong YY, Chin TY. An unusual presentation of ankylosing spondylitis [J]. Singapore Med J, 2020, 61 (5): 283-284.
- [2] Coskun Benlidayi I, Kurtaran B, Tirasci E, et al. Coronavirus disease 2019 (COVID-19) in a patient with ankylosing spondylitis treated with secukinumab: a case-based review [J]. Rheumatol Int, 2020, 40 (10): 1707-1716.
- [3] Deodhar A, Gladman DD, McInnes IB, et al. Secukinumab immunogenicity over 52 weeks in patients with psoriatic arthritis and ankylosing spondylitis [J]. J Rheumatol, 2020, 47 (4): 539-547.
- [4] Park MC, Kwon OC, Lee SW, et al. MiR-451 suppresses inflammatory responses in ankylosing spondylitis by targeting macrophage migration inhibitory factor [J]. Clin Exp Rheumatol, 2020, 38 (2):

- 275-281.
- [5] Li Y, Huang L, Cai Z, et al. A Study of the Immunoregulatory function of TLR3 and TLR4 on mesenchymal stem cells in ankylosing spondylitis [J]. *Stem Cells Dev*, 2019, 28 (20) : 1398-1412.
- [6] Kiltz U, Sfikakis PP, Gaffney K, et al. Secukinumab use in patients with moderate to severe psoriasis, psoriatic arthritis and ankylosing spondylitis in real-world setting in Europe: baseline data from SERENA Study [J]. *Adv Ther*, 2020, 7 (6) : 2865-2883.
- [7] 谢建丽, 陈海英, 魏平, 等. 活性维生素 D 对骨量减少的强直性脊柱炎患者骨代谢指标及病情的影响 [J]. *中国骨质疏松杂志*, 2018, 24 (3) : 324-327, 344.
- [8] 王胜男, 吕望, 林素仙, 等. 维生素 D3 对强直性脊柱炎患者血清诱导单核巨噬细胞极化的影响 [J]. *浙江大学学报:医学版*, 2018, 47 (4) : 66-71.
- [9] Oppong-Nonterah GO, Lakhdari O, Yamamura A, et al. TLR activation alters bone marrow-derived macrophage differentiation [J]. *J Innate Immun*, 2019, 1 (1) : 99-108.
- [10] Rebenkova MS, Gombozhapova AE, Rogovskaya YV, et al. Dynamics of brain CD68+ and stabilin-1+ macrophage infiltration in patients with myocardial infarction [J]. *Kardiologiia*, 2019, 59 (4) : 44-50.
- [11] Xi Y, Zhang Y, Fang J, et al. Prokaryotic expression of hepatitis c virus-NS3 protein and preparation of a monoclonal antibody [J]. *Monoclon Antib Immunodiagn Immunother*, 2017, 36 (6) : 251-258.
- [12] Lee JW, Nam H, Kim LE, et al. TLR4 (toll-like receptor 4) activation suppresses autophagy through inhibition of FOXO3 and impairs phagocytic capacity of microglia [J]. *Autophagy*, 2019, 5 (5) : 753-770.
- [13] Ali M, Yang F, Jansen JA, et al. Lipoxin suppresses inflammation via the TLR4/MyD88/NF- κ B pathway in periodontal ligament cells [J]. *Oral Dis*, 2020, 26 (2) : 429-438.
- [14] 白皓, 李耀斌, 刘趁心, 等. 强直性脊柱炎患者下颈椎骨折的治疗进展 [J]. *中国脊柱脊髓杂志*, 2019, 29 (9) : 94-97.
- [15] 黄旦, 刘健, 纵瑞凯, 等. 湿热型强直性脊柱炎患者氧化应激相关指标的变化及相关性研究 [J]. *中华中医药杂志*, 2020, 35 (2) : 501-504.
- [16] Sharif K, Bridgwood C, Dubash S, et al. Intestinal and enthesitis innate immunity in early axial spondyloarthritis [J]. *Rheumatology (Oxford)*, 2020, 59 (10) : 67-78.
- [17] Laganù AS, Salmeri FM, Ban Frangež H, et al. Evaluation of M1 and M2 macrophages in ovarian endometriomas from women affected by endometriosis at different stages of the disease [J]. *Gynecol Endocrinol*, 2020, 36 (5) : 441-444.
- [18] Liang S, Cai J, Li Y, et al. 1,25 Dihydroxy vitamin D3 induces macrophage polarization to M2 by upregulating T cell Ig mucin 3 expression [J]. *Mol Med Rep*, 2019, 19 (5) : 3707-3713.
- [19] Miler M, Nikolac Gabaj N, Grazio S, et al. Lower concentration of vitamin D is associated with lower DAS28 and VAS-pain scores in patients with inflammatory rheumatic diseases treated with infliximab: a pilot study [J]. *Rheumatol Int*, 2020, 40 (9) : 1455-1461.
- [20] 黄旦, 刘健, 纵瑞凯, 等. 黄芩清除热痹胶囊激活 PPAR γ 介导 AMPK/FOXO3a 信号通路改善强直性脊柱炎患者氧化应激 [J]. *中国中药杂志*, 2020, 45 (2) : 237-242.
- [21] Zhao J, Yan S, Zhu X, et al. PTPRO exaggerates inflammation in ulcerative colitis through TLR4/NF- κ B pathway [J]. *J Cell Biochem*, 2020, 121 (2) : 1061-1071.
- [22] 章维志, 李国莺, 祁芹, 等. 地奥心血康对动脉粥样硬化大鼠 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路的调节作用 [J]. *中国中药杂志*, 2020, 45 (3) : 602-608.

(收稿:2021-07-01 修回:2022-05-24)

(同行评议专家:伍亚民)

(本文编辑:宁桦)