

Study of TLR2, TLR4 and Apoptosis of Lymphocytes in Patients with Ankylosing Spondylitis

Lijuan Lei¹, Li Ma²

¹The First Affiliated Hospital Laboratory, Guiyang College of Chinese Medicine, Guiyang Guizhou

²Central Laboratory of Affiliated Hospital of Guizhou Medical University, Guiyang Guizhou

Email: 543358131@qq.com

Received: Nov. 27th, 2018; accepted: Dec. 11th, 2018; published: Dec. 18th, 2018

Abstract

Objective: By detecting the expression of TLR2 (TLR2) and TLR4 (TLR4) on the surface of peripheral blood mononuclear cells (mononuclear cells and lymphocytes) and the number of lymphocyte apoptosis in patients with ankylosing spondylitis (AS), the relationship between the apoptosis of TLR2, TLR4 and lymphocyte and the occurrence and development of ankylosing spondylitis was discussed. **Methods:** Peripheral blood samples of 67 AS patients (39 in the inactive group and 28 in the active group) and 30 healthy subjects were detected by flow cytometry. Expression levels of TLR2 and TLR4 on the surface of peripheral blood mononuclear cells were detected by fitc-tlr2 and pe-tlr4 reagents, and apoptosis of peripheral blood lymphocytes was measured by flow annexin-v FITC/PI method. Corresponding homotypic or negative controls were set for each test. **Results:** 1) TLR2 on the surface of peripheral blood mononuclear cells in patients with AS was 23.16% in the disease group, 23.07% in the active group and 23.22% in the inactive group, respectively, higher than 12.53% in the healthy control group, and the difference was statistically significant ($P < 0.01$). There was no statistically significant difference between the inactive AS group and the active AS group ($P > 0.05$). 2) TLR4 on the surface of peripheral blood mononuclear cells in patients with AS was 24.43%, 24.51% and 24.38% respectively in the disease group, the active group and the inactive group, all higher than 12.55% in the healthy control group, and the difference was statistically significant ($P < 0.01$). There was no statistically significant difference between the inactive AS group and the active AS group ($P > 0.05$). 3) The apoptosis of peripheral blood lymphocytes in patients with AS was 84.00% in the disease group, 79.64% in the active group and 87.14% in the inactive group, respectively, which was lower than that in the healthy control group (98.26%), and the difference was statistically significant ($P < 0.01$). AS activity group was lower than the inactive group, and the difference was statistically significant ($P < 0.01$). 4) TLR2 and TLR4 on the surface of mononuclear cells in peripheral blood of AS patients were not correlated with AS activity (BASDI) ($r = 0.043$ and 0.112 , $P > 0.05$). Peripheral blood lymphocyte apoptosis was negatively correlated with activity in patients with AS ($r = -0.568$, $P < 0.05$). **Conclusion:** 1) Abnormal increase of TLR2 and TLR4 were appeared on the surface of mononuclear cells in peripheral blood of AS patients. 2) Apoptosis of lymphocytes in peripheral blood of AS patients decreased.

Keywords

Ankylosing Spondylitis, TLR2, TLR4, Apoptosis

强直性脊柱炎患者单个核细胞TLR2、TLR4与淋巴细胞凋亡的研究

雷丽娟¹, 马莉²

¹贵阳中医学院第一附属医院检验科, 贵州 贵阳

²贵州医科大学附属医院中心实验室, 贵州 贵阳

Email: 543358131@qq.com

收稿日期: 2018年11月27日; 录用日期: 2018年12月11日; 发布日期: 2018年12月18日

摘要

目的: 通过检测强直性脊柱炎(ankylosing spondylitis, AS)患者外周血单个核细胞(单核细胞、淋巴细胞)表面TLR2 (Toll-like receptors2, TLR2)、TLR4 (Toll-like receptors4, TLR4)的表达及淋巴细胞凋亡的数量, 探讨TLR2、TLR4及淋巴细胞的凋亡与强直性脊柱炎发生发展的关系。方法: 应用流式细胞术检测67例AS患者(非活动性组39例, 活动性组28例)和30例健康体检者的外周血标本。通过应用FITC-TLR2、PE-TLR4两种试剂检测外周血单个核细胞表面TLR2、TLR4的表达水平, 以及流式Annexin-v FITC/PI法检测外周血淋巴细胞的凋亡量。各实验检测均设定相应的同型或阴性对照。结果: 1) AS患者外周血单个核细胞表面TLR2在疾病组、活动性组和非活动性组分别为: 23.16%、23.07%和23.22%, 均高于健康对照组12.53%, 差异有统计学意义($P < 0.01$); AS非活动性组与活动性组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。2) AS患者外周血单个核细胞表面TLR4在疾病组、活动性组和非活动性组分别为: 24.43%、24.51%和24.38%, 均高于健康对照组12.55%, 差异有统计学意义($P < 0.01$); AS非活动性组与活动性组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。3) AS患者外周血淋巴细胞凋亡在疾病组、活动性组、非活动性组分别为: 84.00%、79.64%和87.14%, 均低于健康对照组98.26%, 差异有统计学意义($P < 0.01$); AS活动性组低于非活动性组, 差异有统计学意义($P < 0.01$)。4) AS患者外周血单个核细胞表面TLR2、TLR4与AS活动性(BASDI)无相关性($r = 0.043$ 及 0.112 , $P > 0.05$); AS患者外周血淋巴细胞凋亡与活动性呈中度负相关($r = -0.568$, $P < 0.05$)。结论: 1) AS患者外周血单个核细胞表面TLR2、TLR4出现异常增高。2) AS患者外周血淋巴细胞凋亡量减少。

关键词

强直性脊柱炎, TLR2, TLR4, 凋亡

Copyright © 2018 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

强直性脊柱炎是仅次于类风湿性关节炎的一种常见的全身性自身免疫性疾病, 主要侵犯中轴关节, 以骶髂关节炎和脊柱强直为其主要特点, 病因与发病机制迄今未明[1]。AS 在全球各国发病率存在明显种族、地区差异[2], 贵州地区为此病多发区域, 可能与贵州属于高海拔地区及较为湿寒的环境气候有关[3]。该病多发于 15~30 岁的男性青壮年, 病情严重患者极易致畸致残并丧失生活自理能力[4]。AS 发病机制目前不清, 近年来提出多种假说, 如病毒感染假说、遗传假说、免疫假说[5]。有研究结果显示[6], 自身免疫、细菌感染等都是 AS 发病的重要因素, 因此目前有很多学者将强直性脊柱炎化归为自身免疫性疾病。

TOLL 样受体(Toll-like receptors, TLR)信号是机体抵抗外界感染的第一道防线, 但信号的过度活化也可引起级联反应, 打破机体对自身抗原的免疫耐受, 促进自身免疫性疾病的发生发展[7]。文献报道[8], TLR 不仅参与抗菌免疫还参与某种自身免疫病(如 SLE、RA)的发生。TLR 是识别微生物成分的特定模式分子, 它的发现使人们认识到天然免疫和适应性免疫一样重要, 它们共同防御入侵的病原体, 并能通过信号转导将二者有效连接起来[9]。TLR 亚型中 TLR2 (Toll-like receptors2, TLR2)和 TLR4 (Toll-like receptors4, TLR4)是主要参与天然免疫的两种亚型。

细胞增殖和凋亡的动态平衡是维持机体自身免疫稳定的重要因素, 这种平衡的破坏可能会导致多种自身免疫性疾病的发生。文献报道, TLR 与中性粒细胞的凋亡密切相关[10], 在 TLR 亚型中 TLR2 具有诱导凋亡和抗凋亡的作用, TLR2 与淋巴细胞凋亡的改变在 AS 疾病的发生发展过程中是否存在相关性并未见报道。因此, 本课题通过研究强直性脊柱炎患者外周血单个核细胞表面 TLR2、TLR4 与淋巴细胞凋亡的数量, 为探讨强直性脊柱炎患者疾病的发生、发展及病程监测提供新思路和新途径, 以期为临床诊断及治疗提供新思路新方法。

2. 材料与方法

2.1. 材料

标本来源: 收集 2017 年 6 月至 2017 年 11 月贵州医科大学附属医院及贵阳中医学院第一附属医院 HLA-B27 阳性的强直性脊柱炎患者外周血标本 67 例, 入选标准采用的是 1984 年修订的纽约标准[11]。具体标准包括两项: 1) 临床标准: a) 腰痛, 晨僵 3 个月以上, 活动改善, 休息无改善; b) 腰椎额状面, 矢状面活动受限; c) 胸廓活动度低于相应年龄、性别的正常人。2) 放射学标准: a) 骶髂关节炎, 双侧 > II 级或单侧 III~IV 级。II 级为轻度异常, 可见局限性侵蚀, 硬化, 但关节间隙正常。III 级为明显异常, 有侵蚀, 硬化, 关节间隙增宽或狭窄, 部分强直等 1 项(或以上)改变。IV 级为严重异常, 即完全性关节强直。其中男性 53 例, 女性 14 例, 年龄 9~58 岁, 平均年龄 28 岁, 男性平均年龄 27 岁, 女性平均年龄 30 岁。健康对照组 30 例, 外周血标本均来自贵阳中医学院第一附属医院体检中心健康体检者, 其中男性 24 例, 女性 6 例, 年龄 19~52 岁, 平均年龄 27 岁, 无 HIV 感染, 无病毒性肝炎, 无自身免疫性疾病史, 血压、心肺功能、血常规、血生化、肝功能、肾功能、尿检均正常。

2.2. 方法

1) 标本收集: 实验对象标本采集晨起空腹静脉血 2 ml 至 EDTA-2K 抗凝管中, 标本于采集后 6 小时内行流式细胞术检测。

2) 标本检测: 调整 FACSCanto II 至最佳工作状态: 打开流式细胞仪运行开机程序, 待仪器预热后使用校准品 7 色标准荧光校准微球(BD FACS 7-Color Setup Beads)在 FACS Canto 软件下校正光路和电路,

调节仪器电压使微球在预订靶值, 检测仪器灵敏度, 校准成功后在运行上机程序。标本检测: 打开 FACS Diva 软件, 将标本置于上样盘中依次收集标本, 同时设空白、同型对照, 每管收集 1×10^4 个细胞, 检测 TLR2、TLR4 及淋巴细胞凋亡。

2.3. 统计学分析

采用 SPSS19.0 分析实验数据: 计量资料的统计描述用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 统计分析采用方差分析, 组间差异分析有统计学意义者再采用最小显著差法(LSD 法)进行多重比较分析, 以 $P < 0.05$ 作为具有统计学差异的界值。在符合正态分布的两变量之间相关性分析采用 Pearson 相关分析方法方法进行统计分析; 不符合正态分布的两变量之间相关性分析采用 Spearman 相关分析

方法进行统计分析, $|r| > 0.7$ 存在高度相关, $0.4 \leq |r| < 0.7$ 中度相关, $|r| < 0.4$ 低度相关, 以 $P < 0.05$ 作为具有统计学差异的界值。

3. 结果

1) 不同活动性 AS 患者单个核细胞 TLR2 的检测结果

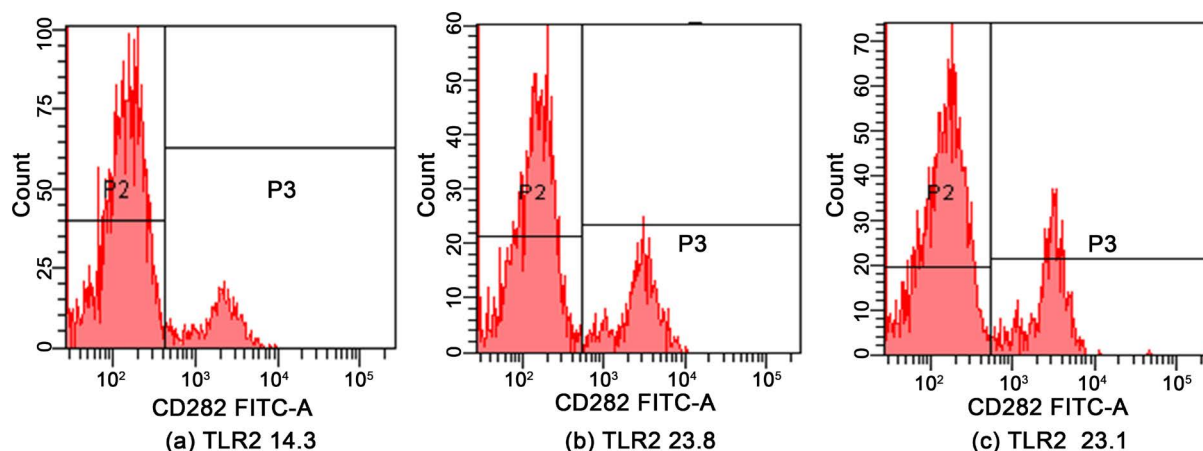
AS 患者外周血单个核细胞 TLR2, AS 疾病组(23.16 ± 1.13)%与健康对照组(12.53 ± 0.77)%比较增多, 差异有统计学意义($P < 0.01$); 且 AS 非活动性组(23.22 ± 1.12)%、活动性组(23.07 ± 1.16)%与健康对照组比较均也增多($P < 0.01$), 差异有统计学意义; AS 非活动性组与 AS 活动性组比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$) (表 1, 图 1)。

Table 1. The expression levels of TLR2 in PBMC of AS patients and healthy control (%)

表 1. AS 患者及健康对照外周血单个核细胞 TLR2 的表达水平(%)

组别	例数	TLR2 ($\bar{x} \pm s$)
健康对照	30	12.53 ± 0.77
AS 疾病组	67	$23.16 \pm 1.13^*$
非活动性组	39	$23.22 \pm 1.12^*$
活动性组	28	$23.07 \pm 1.16^*$

注: 与健康对照组比较* $P < 0.01$ 。



注: (a) 健康对照组; (b) 非活动性组; (c) 活动性组

Figure 1. The flow chart of TLR2 (%)

图 1. TLR2 流式细胞图(%)

2) 不同活动性 AS 患者单个核细胞 TLR4 的检测结果

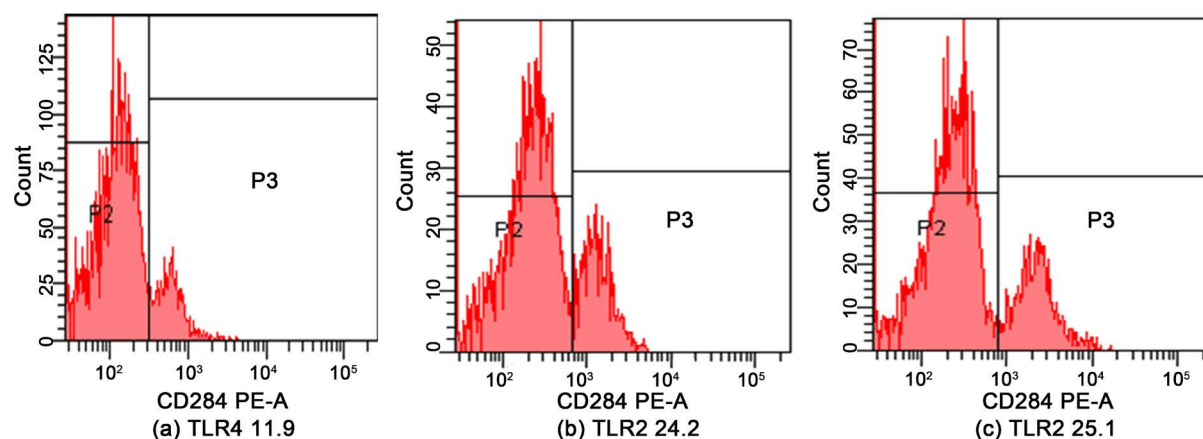
AS 患者外周血单个核细胞 TLR4, AS 疾病组(24.43 ± 0.80)%与健康对照组(12.55 ± 0.81)%比较增多, 差异有统计学意义($P < 0.01$); 且 AS 非活动性组(24.38 ± 0.84)%、活动性组(24.51 ± 0.75)%与健康对照组比较均也增多($P < 0.01$), 差异有统计学意义; AS 非活动性组与 AS 活动性组比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$) (表 2, 图 2)。

Table 2. The expression levels of TLR4 in PBMC of AS patients and healthy control (%)

表 2. AS 患者及健康对照外周血单个核细胞 TLR4 的表达水平(%)

组别	例数	TLR4($\bar{x} \pm s$)
健康对照	30	12.55 ± 0.81
AS 疾病组	67	$24.43 \pm 0.80^*$
非活动性组	39	$24.38 \pm 0.84^*$
活动性组	28	$24.51 \pm 0.75^*$

注: 与健康对照组比较* $P < 0.01$ 。



注: (a) 健康对照组; (b)非活动性组; (c) 活动性组

Figure 2. The flow chart of TLR4 (%)

图 2. TLR4 流式细胞图(%)

3) 不同活动性 AS 患者外周血淋巴细胞凋亡的检测结果

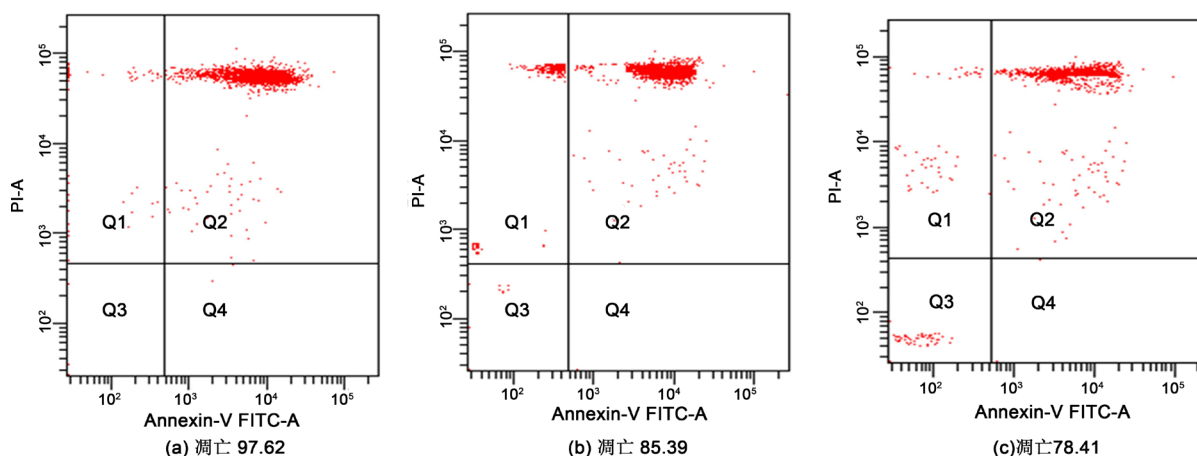
AS 患者外周血淋巴细胞凋亡, AS 疾病组(84.00 ± 5.08)%与健康对照组(98.26 ± 0.70)%比较减少, 差异有统计学意义($P < 0.01$); 且 AS 非活动性组(87.14 ± 3.23)%、活动性组(79.64 ± 3.79)%与健康对照组比较均也减少, 差异有统计学意义($P < 0.01$); AS 非活动性组与 AS 活动性组比较, 差异有统计学意义($P < 0.01$) (表 3, 图 3)。

Table 3. The comparison of apoptosis in PB lymphocyte of AS patients and healthy control

表 3. AS 患者及健康对照外周血淋巴细胞凋亡(%)

组别	例数	凋亡($\bar{x} \pm s$)
健康对照	30	98.26 ± 0.70
AS 疾病组	67	$84.00 \pm 5.08^*$
非活动性组	39	$87.14 \pm 3.23^*$
活动性组	28	$79.64 \pm 3.79^{*#}$

注: 与健康对照组比较* $P < 0.01$, 与非活动性组比较# $P < 0.01$ 。



注: (a) 健康对照组; (b) 非活动性组; (c) 活动性组

Figure 3. The flow chart of lymphocyte apoptosis

图 3. 淋巴细胞凋亡流式细胞图(%)

4) AS 患者 TLR2、TLR4、淋巴细胞凋亡与活动性的相关性分析

AS 患者外周血单个核细胞表面 TLR2 与活动性(BASDI)无相关性($r = 0.043$, $P > 0.05$); AS 患者外周血单个核细胞表面 TLR4 与活动性无相关性($r = 0.112$, $P > 0.05$); AS 患者外周血淋巴细胞凋亡与活动性呈中度负相关($r = -0.568$, $P < 0.05$) (见表 4)。

Table 4. Correlation between TLR2, TLR4, apoptosis with activity in AS patients

表 4. AS 患者 TLR2、TLR4、淋巴细胞凋亡与活动性的相关性分析

	TLR2	TLR4	凋亡
r 值	0.043	0.112	-0.568
P 值	0.730	0.367	0.000

4. 讨论

强直性脊柱炎是一种与 HLA-B27 相关的慢性炎性风湿性疾病, 以中轴关节慢性炎症为主, 并几乎累及骶髂关节, 被认为与遗传、环境、感染相关[12] [13]。在脊柱关节病模型的病因研究中, 细菌感染与 HLA-B27 之间的作用可能是一个关键因素, AS 与 HLA-B27 抗原呈强相关性, HLA-B27 是迄今已知的与 AS 疾病关联最强的检测指标。本研究检测样本皆选自 HLA-B27 阳性的标本。

有研究报道, 固有免疫应答和获得性免疫应答在强直性脊柱炎的发病中均起作用[14]。TOLL 样受体(toll-likereceptors, TLRs)是近年来备受关注的一种模式识别受体, 作为天然免疫分子的成员已经成为目前免疫学研究的热点。目前在人体中发现了 10 种 TLR 的亚型[15], TLR 分布广泛, 主要表达于免疫细胞如树突状细胞、淋巴细胞、单核巨噬细胞[16]。大量研究表明 TLRs 通过识别不同病原体的病原相关模式分子(pathogen associated molecular pattern, PAMP) [17], 在机体的天然免疫和获得性免疫中发挥着重要作用。有研究报道, TLR2 和 TLR4 在 TLRs 中表达范围最广, 是介导天然免疫反应及适应性免疫应答的重要分子[18], 通过刺激 T 细胞的活化与增殖, 引起适应性免疫应答, 在 RA 等自身免疫性疾病的发病中发挥重要作用[19]。在 TLR 家族中 TLR2 和 TLR4 表达在细胞表面, 既是连接天然免疫和获得性免疫的关键分子, 又是主要的病原菌识别受体, TLR2 主要识别革兰阳性细菌的脂蛋白与肽聚糖, TLR4 主要识别革兰阴性细菌的脂多糖(LPS)。人们一直怀疑感染因素在 AS 等自身免疫性疾病的病因和发病机制中可能有重

要作用, TLR2 和 TLR4 的高表达可能与其接受感染因子刺激有关。苏虹等[20]曾报道在 AS 疾病发展过程中, 可能存在病原微生物感染或内源性物质经 TLR4 通路造成炎症损失继而引发 AS, TLR 通过信号转导通路可以激活多种促炎性因子进而参与抗感染的炎症过程。AS 是自身免疫性疾病, 存在活化的针对自身抗原的免疫反应, TLR2、TLR4 能够通过刺激类风湿关节炎小鼠模型中 T 细胞的平衡状态而引起免疫紊乱, 随着动物模型及免疫学、分子生物学研究进展, 发现 AS 与 CD4 + T 淋巴细胞免疫异常有关[21]。近年来大量研究表明 T 细胞凋亡不足和增殖增加与某些免疫性疾病的发生有关[22]。细胞凋亡不仅参与了免疫系统中免疫细胞的生长发育、免疫调节、免疫效应等生理机能, 而且在维持免疫功能稳定方面也具有重要作用[23]。

5. 结论

本研究结果显示, AS 患者外周血单个核细胞表面 TLR2、TLR4 均较健康人增多, 这与 De Rycke 等人[24]和 Yang 等人[25]及毋静[26]等人的研究结果相一致。且 AS 患者在活动性组与非活动性组中 TLR2、TLR4 的表达均高于健康对照组, 但活动性组与非活动性组之间的表达无统计学意义。提示在 AS 患者体内 TLR2、TLR4 表达水平于疾病非活动期即可出现异常, 并且异常表达水平伴随 AS 疾病的整个发病过程, 虽然在疾病发展过程中并没有随疾病的进展而增加, 但在 AS 患者体内, 无论疾病处于何阶段, TLR2、TLR4 皆较健康对照增高。本研究结果及前期研究结果为 TLR2、TLR4 通过介导 T 淋巴细胞的免疫表达继而激活促炎因子, 可能为炎症感染参与的自身免疫性疾病的发生提供依据, 并且提示 AS 疾病的发生与感染因素相关。纠正细胞失衡、调节其功能、防治治炎细菌的感染是治疗 AS 的可能策略, 以达到诱导病情缓解、减轻关节炎症反应。

本研究结果还指出, AS 患者外周血淋巴细胞凋亡数量较健康对照组低, 从侧面反映 AS 患者体内淋巴细胞凋亡缓慢, 提示 AS 与淋巴细胞的凋亡有着一定的关系, 与王海隆等的研究结果一致[27]。并且 AS 患者活动性组与非活动性组淋巴细胞凋亡的数量也存在统计学的差异, 提示在疾病发展过程中淋巴细胞凋亡数量持续异常表达, 随着疾病的发生发展持续性出现, 正常的组织代谢受到严重影响。淋巴细胞凋亡数量随着疾病活动性的增加逐渐减少, 相应的淋巴细胞出现了相对性增多, 导致了 AS 患者体内自身免疫功能紊乱, 使免疫应答也发生异常的表达。

综上所述, AS 患者单个核细胞表面 TLR2、TLR4 与淋巴细胞凋亡数量在 AS 疾病的发生发展过程中均呈现某种相应的异常改变。在非活动期, 单个核细胞表面 TLR2、TLR4 检测可用于 AS 的鉴别诊断, 对于疾病的发现与治疗颇有意义。

参考文献

- [1] iCarlo, E.F. and Kahn, L.B. (2011) Inflammatory Diseases of the Bones and Joints. *Seminars in Diagnostic Pathology*, **28**, 53-64.
- [2] 张乃铮, Wlghy R., 曾庆余, 等. 中国风湿性疾病的流行情况调查[J]. 中华风湿病学杂志, 1997, 1(1): 31.
- [3] 徐皓, 陈宗雄, 李亿农. 强直性脊柱炎诊断与治疗选择[M]. 北京: 人民军医出版社, 2008: 3-7.
- [4] 刘巍, 方方. 强直性脊柱炎病因及发病机制的研究进展[J]. 山东医药, 2010, 50(15): 108-109.
- [5] Díaz-Peña, R. and López-Vázquez, A. (2012) Old and New HLA Associations with Ankylosing Spondylitis. *Tissue Antigens*, **80**, 205-13.
- [6] 杨春花, 黄烽. 强直性脊柱炎免疫遗传学和发病机制研究进展[J]. 现代免疫学, 2007, 27(4): 265-269.
- [7] 马瑞敏, 张国军, 康熙雄. TOLL 样受体与自身免疫性疾病关系的研究进展[J]. 首都医科大学学报, 2012, 33(2): 177-181.
- [8] 武加标, 任敏. TOLL 样受体的研究进展及其与自身免疫性疾病的关系[J]. 中国临床新医学, 2010, 3(10): 1018-1022.

- [9] Takeda, K., Kaisho, T., Akira, S., *et al.* (2003) Toll-Like Receptors. *Annual Review of Immunology*, **21**, 335-376.
- [10] 徐文飞. 中性粒细胞中 Toll 样受体的表达与功能[J]. 现代免疫学, 2007, 27(5): 426-429.
- [11] Vander Linden, S., Valkenburg, H.A. and Cats, A. (1984) Evaluation of Diagnostic. Criteria for Ankylosing Spondylitis: A Proposal for Modification of the New York Criteria. *Arthritis & Rheumatology*, **27**, 361-368.
- [12] Nurieva, R.I., Podd, A., Chen, Y., *et al.* (2012) STAT5 Negatively Regulates T Follicular Helper (T_{fh}) Cell Generation and Function. *The Journal of Biological Chemistry*, **287**, 11234-11239.
- [13] 睦维国, 李凤艳, 陈洁晶, 等. 强直性脊柱炎患者外周血中 Th17 细胞水平研究[J]. 免疫学杂志, 2011, 4(27): 365-368.
- [14] Braun, J. and Sieper, J. (2007) Ankylosing Spondylitis. *Lancet*, **369**, 1379-1390. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(07\)60635-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(07)60635-7)
- [15] Santegrecets, K.C., Vail Ban, L., vanden Berg, W.B., *et al.* (2011) Toll-Like Receptors in Rheumatic Diseases: Arc We Paying a High Price for Our Defense against Bugs? *FEBS Letters*, **585**, 3660-3666.
- [16] Marsland, B.J. and Kopf, M. (2007) Toll-Like Receptors: Paving the Path to T Cell-Driven Autoimmunity? *Current Opinion in Immunology*, **19**, 611-614. <https://doi.org/10.1016/j.coi.2007.07.022>
- [17] Akira, S. and Uematsu, S. (2006) Takeuchi O. Pathogen Recognition and Innate Immunity. *Cell*, **124**, 783-801. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.02.015>
- [18] Pålsson-McDermott, E.M. and O'Neill, L.A. (2007) The Potential of Targeting Toll-Like Receptor 2 in Autoimmune and Inflammatory Diseases. *Irish Journal of Medical Science*, **176**, 253-260. <https://doi.org/10.1007/s11845-007-0103-1>
- [19] Takagi, M. (2011) Toll-Like Receptor—A Potent Driving Force behind Rheumatoid Arthritis. *Journal of Clinical and Experimental Hematopathology*, **51**, 77-92. <https://doi.org/10.3960/jslrt.51.77>
- [20] 苏虹, 常微微, 徐胜前, 等. 强直性脊柱炎患者 Toll 样受体 4 表达和 sTRAIL、TNF- α 、IL-12 水平的研究[J]. 临床输血与检验, 2010, 12(4): 302-305.
- [21] 李冬梅, 李向培, 等. 强直性脊柱炎患者外周血 CD4+CD25+CD127^{low}-T 细胞检测及其意义[J]. 中华临床免疫和变态反应杂志, 2008, 2(4).
- [22] Zai-Xing, Y., Yan, L., Hao, W., *et al.* (2008) Preliminary Clinical Measurement of the Expression of TNF-Related Apoptosis Inducing Ligand in Patients with Ankylosing Spondylitis. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, **22**, 138-145. <https://doi.org/10.1002/jcla.20231>
- [23] Smith, C.A., Farrah, T. and Goodwin, R.G. (1994) The TNF Receptor Superfamily of Cellular and Viral Proteins: Activation, Costimulation and Death. *Cell*, **76**, 959-962. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(94\)90372-7](https://doi.org/10.1016/0092-8674(94)90372-7)
- [24] De Rycke, L., Vandooren, B., Kruihof, E., De Keyser, F., Veys, E.M. and Baeten, D. (2005) Tumor Necrosis Factor Alpha Blockade Treatment Down-Modulates the Increased Systemic and Local Expression of Toll-Like Receptor 2 and Toll-Like Receptor 4 in Spondylarthropathy. *Arthritis & Rheumatology*, **52**, 2146-2158. <https://doi.org/10.1002/art.21155>
- [25] Yang, Z.X., Liang, Y., Zhu, Y., *et al.* (2007) Increased Expression of Toll-Like Receptor 4 in Peripheral Blood Leucocytes and Serum Levels of Some Cytokines in Patients with Ankylosing Spondylitis. *Clinical & Experimental Immunology*, **149**, 48-55. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2007.03396.x>
- [26] 毋静, 于清宏, 曲源, 等. TLR-2, TLR-4 在强直性脊柱炎患者外周血单个核细胞中的表达及其临床意义[J]. 新医学, 2011, 42(3): 166-169.
- [27] 王海隆, 冯兴华. 强直性脊柱炎患者外周血 CD4+T 细胞凋亡初步研究[J]. 中国中医风湿病学杂志, 2008, 11(3): 141-142.

知网检索的两种方式：

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>
下拉列表框选择：[ISSN]，输入期刊 ISSN：2164-540X，即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>
左侧“国际文献总库”进入，输入文章标题，即可查询

投稿请点击：<http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱：md@hanspub.org