

DOI: 10.20135/j.issn.1006-8147.2025.01.0025

论著

富马酸二甲酯对 Th17 细胞体外分化调节作用的研究

沈明灿, 王颖, 魏瑞华, 粘红

(天津医科大学眼科医院、眼视光学院、眼科研究所, 国家眼耳鼻喉疾病临床医学研究中心天津市分中心, 天津市视网膜功能与疾病重点实验室, 天津 300384)

摘要 目的:探讨富马酸二甲酯(DMF)对小鼠体外诱导分化的辅助性T细胞17(Th17)的抑制作用。方法:从C57BL/6J小鼠全身淋巴结和脾脏中获取淋巴细胞,采用免疫磁珠技术分选出Naïve CD4⁺T细胞,在细胞因子作用下定向诱导分化为Th17细胞,建立Th17细胞体外诱导分化模型。实验分组设置为:对照组、5 μmol/L DMF组、15 μmol/L DMF组、25 μmol/L DMF组。流式细胞术检测各组中Th17细胞的比率,qRT-PCR检测各组视黄酸受体相关孤儿受体γt(RORγt)、白细胞介素-17A(IL-17A)、白细胞介素-23受体(IL-23R)、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)、γ-干扰素(IFN-γ)、T辅助细胞分化转录因子(T-bet)和叉头框蛋白P3(FOXP3)mRNA的相对表达量,ELISA法检测各组IL-17A的蛋白表达量。结果:CD4⁺T细胞阳性分选率约为93%;流式细胞术检测结果显示,与对照组相比,DMF处理后Th17细胞比率显著降低,25 μmol/L DMF组抑制作用最显著($t=5.227, P<0.01$),且呈剂量依赖性,并且在25 μmol/L DMF给药浓度下对细胞活性没有影响;qRT-PCR结果分析显示,25 μmol/L DMF组中RORγt、IL-17A、IL-23R、GM-CSF和IFN-γ的mRNA相对表达量均低于对照组($t=4.061, P<0.05$; $t=4.701, P<0.01$; $t=19.18, P<0.0001$; $t=19.18, P<0.05$; $t=2.870, P<0.05$),而两组中T-bet和FOXP3 mRNA表达量差异无统计学意义($t=0.105, 0.7319$, 均 $P>0.05$);ELISA法检测结果显示,与对照组相比,25 μmol/L DMF组的IL-17A浓度显著降低($t=4.786, P<0.01$)。结论:DMF可能通过抑制RORγt与IL-17A、IL-23R、GM-CSF、IFN-γ的表达,进而抑制Naïve CD4⁺T细胞向Th17细胞分化的能力与Th17细胞的致病功能。

关键词 富马酸二甲酯;辅助性T细胞17;分化;RORγt;IL-23R

中图分类号 R771.3

文献标志码 A

文章编号 1006-8147(2025)01-0025-06

The regulation of dimethyl fumarate in the differentiation of Th17 cells *in vitro*

SHEN Mingcan, WANG Ying, WEI Ruihua, NIAN Hong

(Tianjin Medical University Eye Hospital, School of Ophthalmology and Optometry, Institute of Ophthalmology, Tianjin Branch of National Clinical Medical Research Center for Ophthalmology and Otorhinolaryngology, Tianjin Key Laboratory of Retinal Function and Diseases, Tianjin 300384, China)

Abstract Objective: To investigate the inhibitory effect of dimethyl fumarate (DMF) on the differentiation of helper T cells 17 (Th17) *in vitro*. **Methods:** Lymphocytes were obtained from the systemic lymph nodes and spleens of C57BL/6J mice. Naïve CD4⁺T cells were sorted by immunomagnetic beads and induced to differentiate into Th17 cells under the action of cytokines, and the induction differentiation model of Th17 cells was established *in vitro*. The experiment was divided into control group, 5 μmol/L DMF group, 15 μmol/L DMF group and 25 μmol/L DMF group. The ratio of Th17 cells in each group was detected by flow cytometry. The relative expression of retinoic acid receptor-related orphan receptor gamma-t (RORγt), interleukin-17A (IL-17A), interleukin-23 receptor (IL-23R), granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF), interferon gamma (IFN-γ), T-box expressed in T cells (T-bet) and forkhead box protein P3 (FOXP3) mRNA in each group was detected by qRT-PCR. The protein expression of IL-17A in each group was detected by ELISA. **Results:** The positive sorting rate of CD4⁺T cells was about 93%. The results of flow cytometry showed that compared with the control group, the ratio of Th17 cells was significantly decreased after DMF treatment, and the inhibitory effect of 25 μmol/L DMF was the most significant ($t=5.227, P<0.01$) in a dose-dependent manner. There was no effect on cell activity at 25 μmol/L DMF concentration. The results of qRT-PCR analysis showed that the relative mRNA expression of RORγt, IL-17A, IL-23R, GM-CSF and IFN-γ in the 25 μmol/L DMF group were significantly lower than those in the control group, and the difference was statistically significant ($t=4.061, P<0.05$; $t=4.701, P<0.01$; $t=19.18, P<0.0001$; $t=19.18, P<0.05$; $t=2.870, P<0.05$, respectively), but there was no significant difference in the expression of T-bet and FOXP3 mRNA between the two groups ($t=0.105, 0.7319$, both $P>0.05$). The results of ELISA showed that the concentration of IL-17A in the 25 μmol/L DMF group was significantly lower than that in the control group ($t=4.786, P<0.01$). **Conclusion:** DMF may inhibit the differentiation of Naïve CD4⁺T cells into Th17 cells and the pathogenic function of Th17 cells by inhibiting the expression of RORγt, IL-17A, IL-23R, GM-CSF and IFN-γ.

Key words dimethyl fumarate; Th17 cells; differentiation; RORγt; IL-23R

基金项目 天津市教委科研计划自然科学基金重点项目(2023ZD018)

作者简介 沈明灿(1999-),男,硕士在读,研究方向:眼科学;通信作者:粘红,E-mail:nianhong@126.com。

辅助性 T 细胞(Th)17 细胞由 CD4⁺ T 细胞分化而来的,能够通过分泌白细胞介素-17A(IL-17A)、白细胞介素-17F(IL-17F)、白细胞介素-21(IL-21)和肿瘤坏死因子- α (TNF- α)等促炎细胞因子,引发机体组织的炎症反应^[1]。现有研究表明,Th17 的免疫反应与干燥综合征相关干眼、自身免疫性葡萄膜炎、白塞氏病和 Graves 眼病等自身免疫性眼病的发生、发展具有紧密的联系^[2-5]。因此,开发靶向 Th17 细胞药物的自身免疫性眼病治疗策略具有较好的临床前景。

富马酸二甲酯(DMF)是三羧酸循环中间体富马酸盐的酯类衍生物^[6],作为一种已获批用于治疗复发缓解型多发性硬化症(RRMS)和银屑病的免疫调节剂^[7-9],其具有抗炎、抗氧化、免疫调节、神经保护和抗增殖等作用^[10]。但 DMF 是否直接影响 Th17 细胞的分化和功能目前鲜有报道。本研究旨在利用体外模型,探讨 DMF 对 Th17 细胞分化和功能的免疫调控作用及其可能的机制,以期为 Th17 相关的自身免疫性眼病寻找新的候选药物。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 主要试剂及仪器 Dimethyl fumarate (DMF)、佛波醇 12-十四酸酯 13-乙酸酯(PMA)、钙离子霉素(ionomycin)、布雷菲尔得菌素 A(BFA)(美国 Sigma 公司);IMDM 基础培养基、胎牛血清(美国 Gibco 公司);小鼠重组因子 anti-CD3、anti-CD28、白细胞介素-23(IL-23)、转化生长因子- β (TGF- β)、白细胞介素-6(IL-6)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)、抗白细胞介素-4 抗体(anti-IL-4 antibody)、抗 γ -干扰素抗体(anti-IFN- γ antibody,美国 BioLengend 公司);固定破膜液、巯基化藻红蛋白(PE)耦联的抗小鼠 CD4 抗体(PE-CD4)、异硫氰酸荧光素(FITC)耦联的抗小鼠 IL-17 抗体(FITC-IL-17)、逆转录试剂盒、2 \times 实时荧光定量 PCR 扩增预混液(美国 Thermo 公司);RNA 提取试剂盒(美国 EZBioscience 公司);小鼠 IL-17 ELISA 试剂盒(美国 R&D 公司);FACSCalibur 流式细胞仪(美国 BD 公司)

1.1.2 实验动物 SPF 级雄性 C57BL/6J 小鼠 6~8 周龄,体重(20 \pm 1)g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司。实验动物的饲养及操作符合国家科学技术委员会《实验动物管理条例》的规定,并获得天津医科大学动物管理及使用委员会的批准(批文号:TJYY2019110117)。

1.2 方法

1.2.1 磁珠分选小鼠淋巴结与脾脏 CD4⁺ T 细胞及

纯度鉴定 处死小鼠后,碾磨淋巴结和脾脏获取单细胞悬液,封闭细胞表面 Fc 受体,孵育 PE-CD4 抗体。清洗细胞去除多余 PE-CD4 抗体,孵育 anti-PE MicroBeads。按照磁珠分选 CD4⁺ T 细胞试剂盒说明进行分选操作,取适量细胞使用流式细胞仪检测 CD4⁺ T 细胞纯度,FlowJo 软件进行数据分析。

1.2.2 体外诱导分化 Th17 细胞 将 Naïve CD4⁺ T 细胞接种于提前一天包被 anti-CD3(5 μ g/mL)、CD28(1 μ g/mL)的 48 孔板(4.5 \times 10⁵ cell/孔)中。在培养基中加入 IL-23(10 ng/mL)、TGF- β (2.5 ng/mL)、IL-6(10 ng/mL)、IL-1 β (10 ng/mL)、anti-IL-4 抗体(2 μ g/mL)、anti-IFN- γ 抗体(2 μ g/mL)细胞因子的混合液。实验分组设置为:对照组、5 μ mol/L DMF 组、15 μ mol/L DMF 组、25 μ mol/L DMF 组。

1.2.3 流式细胞术检测两组细胞中 Th17 细胞的比率 收集培养 3 d 的细胞,使用刺激液[PMA(50 ng/mL)、BFA(1 μ g/mL)和 ionomycin(1 μ g/mL)]重悬细胞,刺激 4~6 h;封闭细胞表面 Fc 受体,破膜固定,随后使用 PE-CD4 抗体进行细胞表面染色,使用 FITC-IL-17A 抗体进行细胞内染色。使用流式细胞仪检测 Th17 细胞比率,FlowJo 软件进行数据分析。

1.2.4 凋亡实验检测细胞活性 收集培养 3 d 的细胞,PBS 洗涤细胞 2 次,Binding Buffer 重悬细胞,依次加入 Annexin V-FITC 和碘化丙啶(propidium iodide, PI)并混匀,室温避光反应 10 min 后进行流式细胞仪的观察和检测。

1.2.5 实时荧光定量 PCR 细胞培养 2 d 后,按照 EZB RNA 提取试剂盒说明书操作步骤,裂解细胞并提取样本总 RNA,之后使用逆转录试剂盒将所得 RNA 逆转录为 cDNA,以 cDNA 为扩增模板,进行实时荧光定量 PCR 检测。以 β -actin 为内参照,用相对量化方程 2^{- $\Delta\Delta C_t$} 分析 Th17 细胞特征性转录因子 *ROR γ t*、*IL-17A* 与致病性相关基因 *IL-23R*、*GM-CSF* 和 *IFN- γ* 以及 Th1 和 Treg 细胞特异性转录因子 *T-bet* 和 *FOXP3* mRNA 的相对表达量。相关引物序列与产物大小见表 1。

1.2.6 ELISA 实验检测培养上清中 IL-17A 的蛋白含量 细胞培养 3 d 后,收集对照组与 25 μ mol/L DMF 组细胞培养上清液,按照小鼠 IL-17A 蛋白 ELISA 实验试剂盒说明书进行操作,检测两组培养上清样本中 IL-17A 的含量。

1.3 统计学处理 本研究所有实验均重复 3 次或以上,数据均使用 SPSS 26.0 统计学软件进行统计处理与分析,以 $\bar{x}\pm s$ 表示计量资料数据。进行正态性检验和方差齐性检验比较组间差异后,选择合适的

方法分析数据。两组之间比较采用独立样本 t 检验。
检验水准: $\alpha=0.05$ 。

表 1 qRT-PCR 引物序列及产物

Tab.1 Primer sequences and product length of qRT-PCR

检测基因	引物序列(5'→3')	产物长度(bp)
<i>IL-23R</i>	F:GTTACAGCAAAATCATCCACG	123
	R:CAAGAAGACCATTCCGACAAA	
<i>GM-CSF</i>	F:GATATTCGAGCAGGTCTACGG	68
	R:AGCTGGCTGTCATGTTCAAGG	
<i>IFN-γ</i>	F:GTCCAGCGCAAGCATTCAA	93
	R:TCAGCAGCGACTCCTTTTCC	
<i>IL-17A</i>	F:CCTGGCGGTACAGTGAAG	57
	R:TTTGGACACGCTGAGCTTTG	
<i>RORγt</i>	F:CCTCAGCGCCCTGTGTTT	58
	R:GAGAACCAGGGCCGTGAGA	
<i>T-bet</i>	F:ACCTGTTGTGTTCCAAGTTCAA	63
	R:GCCCTCCTTGCTTAGTGATGA	
<i>FOXP3</i>	F:ACCTATGCCACCCTTATCCG	66
	R:TTTCATTGAGTGTCTCTGCGCTC	
β -actin	F:GGCTGTATTCCCTCCATCG	154
	R:CAGTTGCTAACAATGCCATGT	

注:*IL-23R*:白细胞介素-23受体;*GM-CSF*:粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子;*IFN- γ* : γ -干扰素;*IL-17A*:白细胞介素-17A;*ROR γ t*:视黄酸受体相关孤儿受体 γ t;*T-bet*:T辅助细胞分化转录因子;*FOXP3*:叉头框蛋白 P3; β -actin: β -肌动蛋白

2 结果

2.1 磁珠分选小鼠淋巴结和脾脏 CD4⁺T 细胞纯度鉴定 流式细胞仪检测结果分析显示,CD4⁺T 细胞在分选后细胞中所占比例约为 93%(图 1),满足后续实验所需条件。

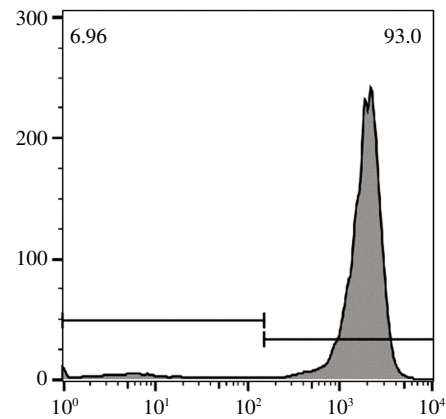
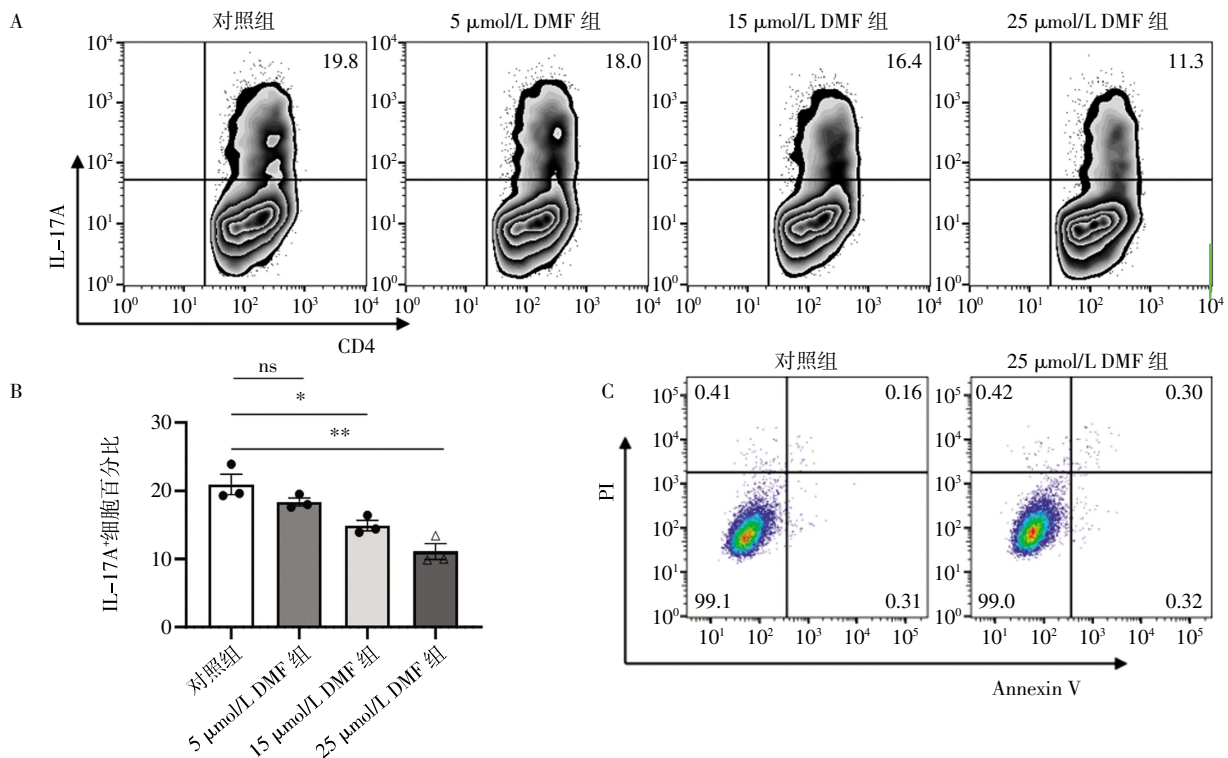


图 1 CD4⁺T 细胞所占比例

Fig.1 Proportion of CD4⁺T cells

2.2 DMF 抑制 Naïve CD4⁺T 细胞向 Th17 细胞分化 与对照组相比,随着 DMF 给药浓度增加,Th17 细胞的比率呈剂量依赖性逐渐降低(图 2A),25 μ mol/L DMF 组抑制作用最显著($t=5.227$, $P<0.01$)(图 2B),且凋亡实验表明该浓度下细胞活性不受影响,因此选择 25 μ mol/L DMF 作为后续实验给药浓度。



注:A:流式细胞术检测不同浓度 DMF 处理后 Th17 细胞的比率;B:与对照组相比,* $P<0.05$,** $P<0.01$,ns:无显著差异;C:凋亡实验检测 25 μ mol/L DMF 组与对照组细胞活性;DMF:富马酸二甲酯

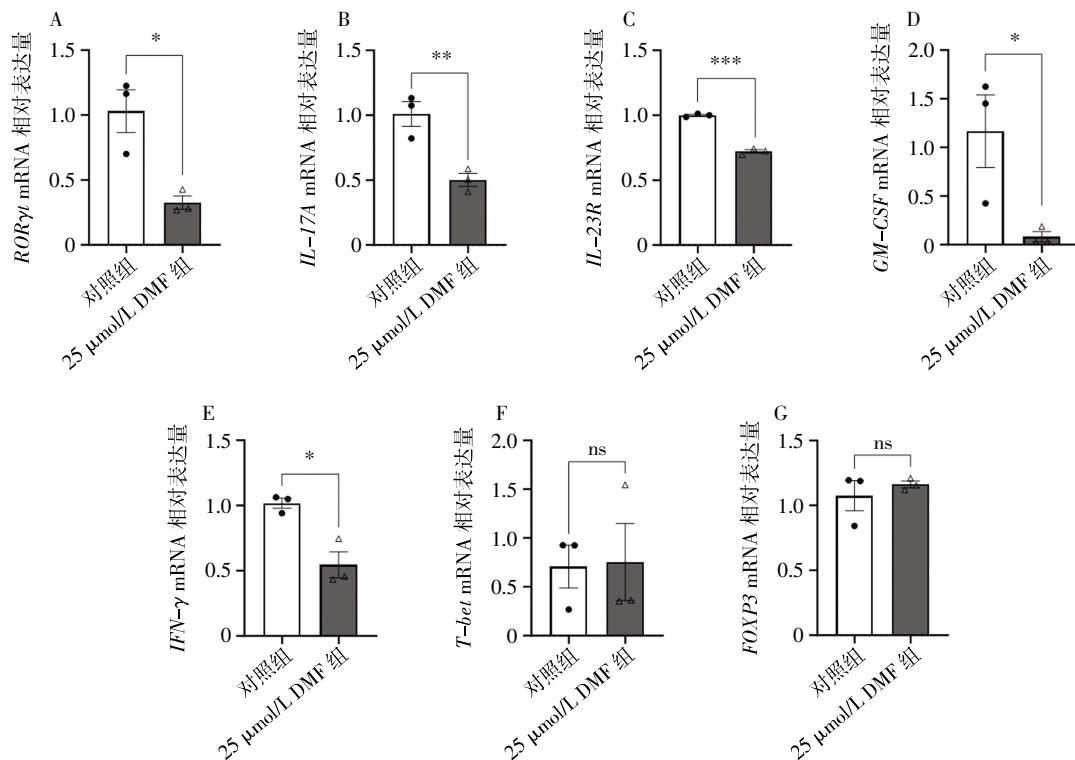
图 2 DMF 抑制 Naïve CD4⁺T 细胞向 Th17 细胞分化

Fig.2 DMF inhibited the differentiation of Naïve CD4⁺T cells into Th17 cells

2.3 DMF 对 Th17 细胞 *ROR γ t*、*IL-17A*、*IL-23R*、*GM-CSF*、*IFN- γ* 、*T-bet* 和 *FOXP3* mRNA 相对表达量的影响 qRT-PCR 显示,与对照组相比,25 μ mol/L DMF 组 *ROR γ t*、*IL-17A*、*IL-23R*、*GM-CSF* 和 *IFN- γ* mRNA 相对表达量显著降低($t=4.061, P<0.05$; $t=4.701, P<0.01$; $t=19.18, P<0.0001$; $t=19.18, P<0.05$; $t=2.870,$

$P<0.05$),而两组 *T-bet* 和 *FOXP3* mRNA 表达量无显著差异($t=0.105, 0.7319$, 均 $P>0.05$),见图 3。

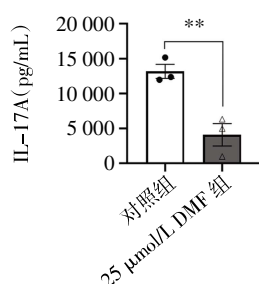
2.4 DMF 对 IL-17A 分泌量的影响 ELISA 检测结果显示,与对照组相比,25 μ mol/L DMF 组的 IL-17A 的蛋白表达量明显下降(图 4),差异具有统计学意义($t=4.786, P<0.01$)。



注: A~G: *ROR γ t*、*IL-17A*、*IL-23R*、*GM-CSF*、*IFN- γ* 、*T-bet*、*FOXP3* mRNA 相对表达量; 与对照组相比, * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$; ns: 无显著差异; DMF: 富马酸二甲酯; *ROR γ t*: 视黄酸受体相关孤儿受体 γ t; *IL-17A*: 白细胞介素-17A; *IL-23R*: 白细胞介素-23 受体; *GM-CSF*: 粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子; *IFN- γ* : γ -干扰素; *T-bet*: T 辅助细胞分化转录因子; *FOXP3*: 叉头框蛋白 P3

图 3 DMF 对 Th17 细胞中 *ROR γ t*、*IL-17A*、*IL-23R*、*GM-CSF*、*IFN- γ* 、*T-bet* 和 *FOXP3* mRNA 相对表达量的影响

Fig.3 The effect of DMF on the relative expression of *ROR γ t*, *IL-17A*, *IL-23R*, *GM-CSF*, *IFN- γ* , *T-bet* and *FOXP3* mRNA in Th17 cells



注: ** $P<0.01$; DMF: 富马酸二甲酯; IL-17A: 白细胞介素-17A

图 4 DMF 对 IL-17A 分泌量的影响

Fig.4 The effect of DMF on the secretion of IL-17A

3 讨论

Th17 细胞是特异性表达 *ROR γ t* 并分泌促炎因子 IL-17 的 CD4⁺ T 细胞亚群,在驱动多种自身免疫性疾病发生、发展中起关键作用^[11]。IL-17 能够募集中性粒细胞、巨噬细胞和单核细胞等到达炎症部

位,加重组织的炎症反应^[12]。研究表明,DMF 在自身免疫性疾病中发挥重要的保护作用。文献报道,DMF 能够通过诱导小胶质细胞从经典激活的促炎型转变为替代激活的神经保护型,从而实现对自身免疫性脑脊髓炎的神经保护作用^[13]。此外,DMF 治疗能够通过减少促炎标志物 iNOS、TNF- α 的表达对实验性自身免疫性葡萄膜炎起到保护作用^[14]。临床研究发现,接受 DMF 治疗的银屑病患者血液中 Th17 细胞的比率以及相关的 IL-17 蛋白表达量下降^[15]。还有研究发现,小鼠脑脊髓炎模型发病期给予 DMF 治疗可显著抑制脱髓鞘疾病的发展以及中枢神经系统 *IL-17A* mRNA 水平^[16]。Chauhan 等^[17]研究表明,体内使用单克隆抗体阻断 IL-17 显著降低了自身免疫性干眼的严重程度,同时伴随着 Th17 细胞的减少和 Treg 功能的恢复。与上述研究结果部分

一致,在本研究中,利用纯化的 CD4⁺ T 细胞,体外给予 DMF 处理可以显著降低 Th17 细胞的比率以及 IL-17A mRNA 和蛋白的表达量,提示 DMF 可直接调控 Th17 细胞的分化。ROR γ t 与 STAT3、IRF4 和 BATF 组成的转录因子复合体能够通过结合 IL-17A 启动子上游的保守非编码序列来诱导并调节 IL-17A 基因的转录,从而完整地启动 Th17 细胞亚群的分化程序,增加 IL-17 的表达^[18-19]。此外,有研究发现 ROR γ t 小分子化合物抑制剂 CQMU151 和 CQMU152 能够减少小鼠视网膜中 Th17 细胞的数量和 IL-17 蛋白的表达,从而降低实验性自身免疫性葡萄膜炎的严重程度^[20]。笔者进一步研究表明,DMF 处理组中 ROR γ t mRNA 的表达显著降低,提示 DMF 可能通过调控 ROR γ t mRNA 的表达进而影响 Th17 细胞的分化。

IL-23R、GM-CSF 和 IFN- γ 与 Th17 细胞的致病性密切相关。IL-23R 主要高表达于致病性 Th17 细胞表面,在致病性 Th17 细胞产生和分化过程中起重要的作用^[21]。越来越多的证据表明,IL-23R 通过多种机制促进成熟 Th17 细胞的致病性,包括维持 Th17 细胞特征性基因(ROR γ t 和 IL-17),诱导效应基因(IL-22、GM-CSF 和 IFN- γ),下调抑制性因子(IL-2、IL-27、IL-12)以及通过上调 IL-23R 表达放大自身信号^[22]。同样在实验性自身免疫性葡萄膜炎中,过表达 IL-23R 增加了 Th17 细胞的比率并且加重了 EAU 小鼠的眼部炎症反应^[23]。GM-CSF 是与 Th17 细胞致病性密切相关的重要细胞因子之一,IFN- γ 同样在增强 Th17 细胞致病性方面具有重要作用^[4,24]。在自身免疫性干眼中,产生 IFN- γ 的 Th17 细胞数量随疾病严重程度的加重而增加^[25]。笔者的研究结果显示,DMF 显著抑制了 Th17 细胞中 IL-23R、GM-CSF 和 IFN- γ 的表达,进一步抑制 Th17 细胞的致病功能。Chen 等^[26]研究报道,在 Th17 细胞中高度表达的 lncRNA Neat1 正向调控抗原特异性 Th17 细胞反应,全身性敲低 Neat1 及 CD4⁺ T 细胞特异性敲低 Neat1 均可减缓小鼠 EAU 的发展。因此,调控 Th17 细胞相关通路是治疗自身免疫性眼病的重要策略。

综上所述,本研究结果表明 DMF 能够通过抑制 Th17 细胞相关特征性基因的表达,进而直接负向调控 Th17 细胞的分化和致病功能,是 Th17 细胞相关自身免疫性眼病极具转化意义的候选药物之一。然而,本研究的局限性在于仅在体外探讨了 DMF 对 Th17 细胞分化和功能的影响,但其在体内的调控作用,还需进一步的探索与研究。

参考文献:

- [1] MILLS K H G. IL-17 and IL-17-producing cells in protection versus pathology[J]. Nat Rev Immunol, 2023, 23(1): 38-54.
- [2] RODRÍGUEZ-CARRIO J, NUCERA V, MASALA I F, et al. Behçet disease: from pathogenesis to novel therapeutic options[J]. Pharmacol Res, 2021, 167: 105593.
- [3] CHEN Y H, LIGHTMAN S, CALDER V L. CD4⁺ T-Cell plasticity in non-infectious retinal inflammatory disease[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(17): 9584.
- [4] VERSTAPPEN G M, CORNETH O B J, BOOTSMA H, et al. Th17 cells in primary Sjögren's syndrome: pathogenicity and plasticity[J]. J Autoimmun, 2018, 87: 16-25.
- [5] WANG Y, MA X M, WANG X, et al. Emerging insights into the role of epigenetics and gut microbiome in the pathogenesis of Graves' ophthalmopathy[J]. Front Endocrinol, 2021, 12: 788535.
- [6] SÁNCHEZ-GARCÍA F J, PÉREZ-HERNÁNDEZ C A, RODRÍGUEZ-MURILLO M, et al. The role of tricarboxylic acid cycle metabolites in viral infections[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2021, 11: 725043.
- [7] MONTES DIAZ G, HUPPERTS R, FRAUSSEN J, et al. Dimethyl fumarate treatment in multiple sclerosis: recent advances in clinical and immunological studies[J]. Autoimmun Rev, 2018, 17(12): 1240-1250.
- [8] MOSER T, AKGÜN K, PROSCHMANN U, et al. The role of TH17 cells in multiple sclerosis: therapeutic implications[J]. Autoimmun Rev, 2020, 19(10): 102647.
- [9] HOSSEINI A, MASJEDI A, BARADARAN B, et al. Dimethyl fumarate: regulatory effects on the immune system in the treatment of multiple sclerosis[J]. J Cell Physiol, 2019, 234(7): 9943-9955.
- [10] MATTEO P, FEDERICO D, EMANUELA M, et al. New and old horizons for an ancient drug: pharmacokinetics, pharmacodynamics, and clinical perspectives of dimethyl fumarate[J]. Pharmaceutics, 2022, 14(12): 2732.
- [11] MADDUR M S, MIOSECC P, KAVERI S V, et al. Th17 cells: biology, pathogenesis of autoimmune and inflammatory diseases, and therapeutic strategies[J]. Am J Pathol, 2012, 181(1): 8-18.
- [12] KORN T, BETTELLI E, OUKKA M, et al. IL-17 and Th17 cells[J]. Annu Rev Immunol, 2009, 27: 485-517.
- [13] PARODI B, ROSSI S, MORANDO S, et al. Fumarates modulate microglia activation through a novel HCAR2 signaling pathway and rescue synaptic dysregulation in inflamed CNS[J]. Acta Neuropathol (Berl), 2015, 130(2): 279-295.
- [14] LABSI M, SOUFLI I, BELGUENDOZ H, et al. Beneficial effect of dimethyl fumarate on experimental autoimmune uveitis is dependent of pro-inflammatory markers immunomodulation[J]. Inflammopharmacology, 2021, 29(5): 1389-1398.
- [15] SULAIMANI J, CLUXTON D, CLOWRY J, et al. Dimethyl fumarate modulates the Treg-Th17 cell axis in patients with psoriasis [J]. Br J Dermatol, 2021, 184(3): 495-503.
- [16] KOBAYASHI K, TOMIKI H, INABA Y, et al. Dimethyl fumarate suppresses Theiler's murine encephalomyelitis virus-induced demyelinating disease by modifying the Nrf2-Keap1 pathway[J]. Int Immunol, 2015, 27(7): 333-344.

(下转第 35 页)

参考文献:

- [1] JIA G, DEMARCO V G, SOWERS J R. Insulin resistance and hyperinsulinaemia in diabetic cardiomyopathy[J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2016, 12(3): 144–153.
- [2] DILLMANN W H. Diabetic cardiomyopathy[J]. *Circ Res*, 2019, 124(8): 1160–1162.
- [3] SHIMABUKURO M, ZHOU Y T, LEVI M, et al. Fatty acid-induced beta cell apoptosis: a link between obesity and diabetes[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1998, 95(5): 2498–2502.
- [4] HARDY S, LANGELIER Y, PRENTKI M. Oleate activates phosphatidylinositol 3 kinase and promotes proliferation and reduces apoptosis of MDA-MB-231 breast cancer cells, whereas palmitate has opposite effects[J]. *Cancer Res*, 2000, 60(22): 6353–6358.
- [5] LISTENBERGER L L, SCHAFFER J E. Mechanisms of lipooptosis: implications for human heart disease[J]. *Trends Cardiovasc Med*, 2002, 12(3): 134–138.
- [6] ZHU S, JIAO W, XU Y, et al. Palmitic acid inhibits prostate cancer cell proliferation and metastasis by suppressing the PI3K/Akt pathway[J]. *Life Sci*, 2021, 286: 120046.
- [7] WANG F, WANG J, LIANG X, et al. Ghrelin inhibits myocardial pyroptosis in diabetic cardiomyopathy by regulating ERS and NL-RP3 inflammasome crosstalk through the PI3K/AKT pathway[J]. *J Drug Target*, 2024, 32(2): 148–158.
- [8] SINGH R, LETAI A, SAROSIEK K. Regulation of apoptosis in health and disease: the balancing act of BCL-2 family proteins[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2019, 20(3): 175–193.
- [9] DEL RE D P, AMGALAN D, LINKERMANN A, et al. Fundamental mechanisms of regulated cell death and implications for heart disease[J]. *Physiol Rev*, 2019, 99(4): 1765–1817.
- [10] LOPASCHUK G D, USSHER J R, FOLMES C D, et al. Myocardial fatty acid metabolism in health and disease[J]. *Physiol Rev*, 2010, 90(1): 207–258.
- [11] ALLIBARDI S, CHIERCHIA S L, MARGONATO V, et al. Effects of trimetazidine on metabolic and functional recovery of postischemic rat hearts[J]. *Cardiovasc Drugs Ther*, 1998, 12(6): 543–549.
- [12] HAMDAN M, URIEN S, LE LOUET H, et al. Inhibition of mitochondrial carnitine palmitoyltransferase-1 by a trimetazidine derivative, S-15176[J]. *Pharmacol Res*, 2001, 44(2): 99–104.
- [13] GUARNIERI C, MUSCARI C. Beneficial effects of trimetazidine on mitochondrial function and superoxide production in the cardiac muscle[J]. *Cardiovasc Drugs Ther*, 1990, 4 (Suppl 4): 814–815.
- [14] VEITCH K, MAISIN L, HUE L. Trimetazidine effects on the damage to mitochondrial functions caused by ischemia and reperfusion[J]. *Am J Cardiol*, 1995, 76(6): 25B–30B.
- [15] GUARNIERI C, MUSCARI C. Beneficial effects of trimetazidine on mitochondrial function and superoxide production in the cardiac muscle of monocrotaline-treated rats[J]. *Biochem Pharmacol*, 1988, 37(24): 4685–4688.
- [16] MORILLAS BLASCO P J, HERNÁNDEZ MARTINEZ A, AZORÍN VILLENA I, et al. Mitochondrial changes induced by trimetazidine in the myocardium[J]. *Med Sci Monit*, 2005, 11(6): BR162–BR167.
- [17] MONTEIRO P, DUARTE A I, GONÇALVES L M, et al. Protective effect of trimetazidine on myocardial mitochondrial function in an ex-vivo model of global myocardial ischemia[J]. *Eur J Pharmacol*, 2004, 503(1–3): 123–128.
- [18] MORIN D, ELIMADI A, SAPENA R, et al. Evidence for the existence of [3H]-trimetazidine binding sites involved in the regulation of the mitochondrial permeability transition pore[J]. *Br J Pharmacol*, 1998, 123(7): 1385–1394.
- [19] KUZMICIC J, PARRA V, VERDEJO H E, et al. Trimetazidine prevents palmitate-induced mitochondrial fission and dysfunction in cultured cardiomyocytes[J]. *Biochem Pharmacol*, 2014, 91(3): 323–336.
- [20] CHEN Y, HUA Y, LI X, et al. Distinct types of cell death and the implication in diabetic cardiomyopathy[J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 42.
- [21] WEI J, ZHAO Y, LIANG H, et al. Preliminary evidence for the presence of multiple forms of cell death in diabetes cardiomyopathy[J]. *Acta Pharm Sin B*, 2022, 12(1): 1–17.
- [22] LU Q B, DING Y, LIU Y, et al. Metrn1 ameliorates diabetic cardiomyopathy via inactivation of cGAS/STING signaling dependent on LKB1/AMPK/ULK1-mediated autophagy[J]. *J Adv Res*, 2023, 51: 161–179.
- (2024-08-22 收稿)
- +++++
- (上接第 29 页)
- [17] CHAUHAN S K, EL ANNAN J, ECOIFFIER T, et al. Autoimmunity in dry eye is due to resistance of Th17 to Treg suppression[J]. *J Immunol*, 2009, 182(3): 1247–1252.
- [18] IVANOV I I, MCKENZIE B S, ZHOU L, et al. The orphan nuclear receptor ROR γ directs the differentiation program of proinflammatory IL-17+ T helper cells[J]. *Cell*, 2006, 126(6): 1121–1133.
- [19] CAPONE A, VOLPE E. Transcriptional regulators of T helper 17 cell differentiation in health and autoimmune diseases[J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 348.
- [20] TAN J, LIU H, HUANG M, et al. Small molecules targeting ROR γ t inhibit autoimmune disease by suppressing Th17 cell differentiation[J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(8): 697.
- [21] KHANAM A, TREHANPATI N, SARIN S K. Increased interleukin-23 receptor (IL-23R) expression is associated with disease severity in acute-on-chronic liver failure[J]. *Liver Int*, 2019, 39(6): 1062–1070.
- [22] GAFFEN S L, JAIN R, GARG A V, et al. IL-23-IL-17 immune axis: discovery, mechanistic understanding, and clinical testing[J]. *Nat Rev Immunol*, 2014, 14(9): 585–600.
- [23] 吴怡媛, 陈思思, 杨超, 等. 白细胞介素-23 受体过表达对实验性自身免疫性葡萄膜炎小鼠辅助性 T 细胞 17/调节性 T 细胞平衡的影响[J]. *中华眼底病杂志*, 2022, 38(5): 389–395.
- [24] YASUDA K, TAKEUCHI Y, HIROTA K. The pathogenicity of Th17 cells in autoimmune diseases[J]. *Semin Immunopathol*, 2019, 41(3): 283–297.
- [25] CHEN Y, CHAUHAN S K, SHAO C, et al. IFN- γ -Expressing Th17 cells are required for development of severe ocular surface autoimmunity[J]. *J Immunol*, 2017, 199(3): 1163–1169.
- [26] CHEN S, WANG J, ZHANG K, et al. LncRNA Neat1 targets NonO and miR-128-3p to promote antigen-specific Th17 cell responses and autoimmune inflammation[J]. *Cell Death Dis*, 2023, 14(9): 610.
- (2024-08-12 收稿)